

**Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**

**División de Ciencia Animal**



“Evaluación cinética de la producción de kéfir de agua utilizando jarabe de *Agave Salmiana*  
como sustrato principal”

Por:

JAQUELINE MIROSLAVA DÍAZ GUTIERRÉZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila,

México

Abril 2026

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISION DE CIENCIA ANIMAL

Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos

**Evaluación cinética de la producción de kéfir de agua utilizando jarabe  
de *Agave Salmiana* como sustrato principal**

Por:

**JAQUELINE MIROSLAVA DÍAZ GUTIERRÉZ**

TESIS

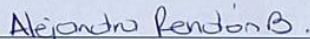
Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para  
obtener el título de:

**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

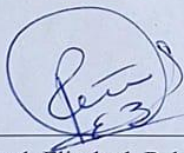
**APROBADA**



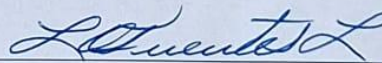
Dr. Mario Alberto Cruz Hernández  
**Presidente**



M.C. Alejandra Estefanía Rendón Benjumea  
**Vocal**



Dra. Ruth Elizabeth Belmares Cerda  
**Vocal**



M.C. Laura Olivia Fuentes Lara  
**Vocal**

Saltillo, Coahuila, México

**Abril 2026**

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISION DE CIENCIA ANIMAL

Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos

**Evaluación cinética de la producción de kéfir de agua utilizando jarabe  
de *Agave Salmiana* como sustrato principal**

Por:

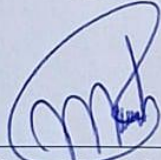
**JAQUELINE MIROSLAVA DÍAZ GUTIERRÉZ**

TESIS

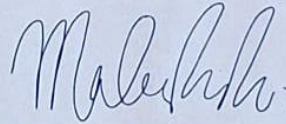
Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para  
obtener el título de:

**INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

Fue dirigida y aprobada por el siguiente comité Asesor:



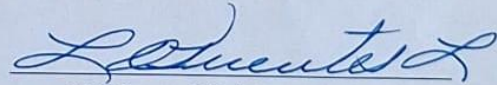
Dr. Mario Alberto Cruz Hernández  
**Director**



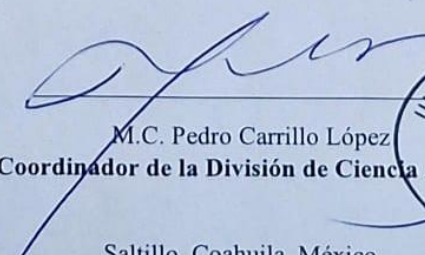
Q.F.B. Marcela Isabel Rico Benítez  
**Asesor**



Dra. Ruth Elizabeth Belmares Cerda  
**Asesor**



M.C. Laura Olivia Fuentes Lara  
**Asesor**



M.C. Pedro Carrillo López  
**Coordinador de la División de Ciencia Animal**

Saltillo, Coahuila, México

**Abril 2026**



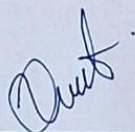
## DECLARATORIA DE NO PLAGIO

### DECLARO QUE:

El trabajo de investigación titulado “**Evaluación cinética de la producción de kéfir de agua utilizando jarabe de *Agave Salmiana* como sustrato principal**” es una producción personal, donde no se ha copiado, replicado, utilizado ideas, citas integrales e ilustraciones diversas, obtenidas de cualquier tesis, obra intelectual, artículo, memoria, (en versión digital o impresa), sin mencionar de forma clara y exacta su origen o autor.

En este sentido, lo anterior puede ser confirmado por el lector, estando consciente de que en caso de comprobarse plagio en el texto o que no se respetaron los derechos de autor; esto será en objeto de sanciones del Comité Editorial y/o legales a las que haya lugar; quedando, por tanto, anulado el presente documento académico sin derecho a la aprobación del mismo, ni a un nuevo envío.

ATENTAMENTE



---

**Jaqueline Miroslava Díaz Gutierrez**

## **Agradecimientos**

Agradezco profundamente a Dios por su infinita bondad, por concederme la fortaleza, la paciencia y la sabiduría necesarias para culminar esta etapa de mi vida académica. En cada desafío, su guía fue luz y sostén para no desistir y confiar en el propósito de este camino. De manera muy especial, agradezco a mis padres José Aniceto y Alicia Margarita por su amor incondicional, apoyo constante, paciencia y sacrificio a lo largo de mi formación. Gracias por creer en mí, por alentarme en los momentos de dificultad y por ser mi mayor inspiración para seguir adelante.

Expreso mi más sincero y especial agradecimiento a la Q.F.B Marcela Rico Benítez, mi asesora de tesis, por su acompañamiento constante, disposición, paciencia y compromiso durante el desarrollo de este proyecto.

Su orientación y apoyo, tanto académico como humano, fueron fundamentales para la realización de esta investigación.

De igual manera, agradezco al Dr. Mario Alberto Cruz Hernández por su valiosa asesoría, por el tiempo brindado y por compartir generosamente sus conocimientos, los cuales enriquecieron de manera significativa en este trabajo.

Agradezco con profundo cariño a mi mejor amiga Jennifer López, por su apoyo incondicional, por estar siempre presente brindándome ánimo, palabras de aliento y porras en cada momento y etapa de este proceso. Su compañía fue fundamental para no rendirme.

Asimismo, agradezco a mis amigas de la universidad, María Vanesa, Zarina Guadalupe, Ana Paola, Alondra Gayosso, Yenifer Cervantes y Jacibe Jarquín, por su amistad, apoyo y consejos, así como por compartir conmigo esta etapa académica, haciendo el camino más llevadero y significativo. )

Agradezco con profundo respeto y orgullo a mi Alma Mater por ser el espacio donde se formaron mis bases académicas y humanas, por las enseñanzas recibidas dentro y fuera del aula, y por brindarme las herramientas necesarias para desarrollar el pensamiento crítico, la disciplina y el compromiso profesional que hoy me acompañan.

Agradezco al Departamento de *Functional Foods and Nutrition* de la Facultad de Ciencias Químicas, por brindarme el apoyo necesario, las facilidades y los materiales utilizados para el desarrollo experimental de esta tesis, así como por el respaldo académico y científico que hizo posible su realización.

Finalmente agradezco a todas las personas que, de manera directa o indirecta, contribuyeron a la realización de este trabajo de investigación y dejaron una huella importante en mi formación profesional y personal.

## Dedicatoria

Dedico este trabajo, con todo mi corazón, a mis padres, José Aniceto Díaz Balderas y Alicia Margarita Gutiérrez González, por su amor incondicional, su apoyo constante y por ser mi refugio, mi fortaleza y mi mayor inspiración. Gracias por creer en mí incluso cuando yo dudé y por enseñarme que con esfuerzo, fe y constancia los sueños se cumplen. A mis mejores amigas, María Teresa Ayanegui e Itzel González, quienes a pesar de la distancia siempre estuvieron presentes, apoyándome incondicionalmente, brindándome ánimo y recordándome que nunca estuve sola en este camino. A todas las personas que formaron parte de este proceso, gracias por acompañarme y aportar un pedacito de ustedes a este logro.

Este trabajo es reflejo del amor, el esfuerzo y los sueños que hoy se hacen realidad.

## TABLA DE CONTENIDO

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. Introducción .....                                                             | 14 |
| 2. Objetivos .....                                                                | 17 |
| 2.1. Objetivo General .....                                                       | 17 |
| 2.2. Objetivos Específicos .....                                                  | 18 |
| 3. Justificación.....                                                             | 19 |
| 4. Antecedentes .....                                                             | 21 |
| 4.1. Agave .....                                                                  | 21 |
| 4.1.1. Género de agave .....                                                      | 21 |
| 4.1.2. Especies de Agave utilizadas en la producción de bebidas alcohólicas ..... | 23 |
| 4.1.3. Agave salmiana: características, usos y variantes .....                    | 24 |
| 4.2. Aguamiel .....                                                               | 24 |
| 4.2.1. Usos tecnológicos del aguamiel .....                                       | 26 |
| 4.2.2. Importancia del aguamiel en la industria alimentaria.....                  | 28 |
| 4.3. Jarabe de Agave .....                                                        | 28 |
| 4.4. Kéfir de agua .....                                                          | 32 |
| 4.5. Propiedades tecnológicas del kéfir de agua.....                              | 35 |
| 4.5.1. Desafíos en la producción de kéfir de agua .....                           | 37 |
| 5. Metodología .....                                                              | 37 |
| 5.1. Recolección del Material.....                                                | 38 |
| 5.2. Descripción y obtención de los sustratos .....                               | 38 |
| 5.3. Análisis de Temperatura y sólidos solubles totales (SST) .....               | 38 |
| 5.4. Proceso de concentración y obtención del jarabe.....                         | 39 |
| 5.5. Determinación del rendimiento del jarabe .....                               | 39 |

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| 5.6. Evaluación de perfiles térmicos y sustratos de fermentación ..... | 39 |
| 5.7. Inoculación .....                                                 | 40 |
| 5.7.1. Fermentación principal y esquema de monitoreo cinético .....    | 40 |
| 5.8. Preparación del Medio de Cultivo y parámetros iniciales.....      | 41 |
| 5.9. Análisis fisicoquímicos del kéfir de agua .....                   | 41 |
| 5.9.1. Determinación de pH y solidos solubles totales (SST) .....      | 41 |
| 5.9.2. Determinación de Acidez Titulable .....                         | 42 |
| 5.9.3. Azúcares Totales.....                                           | 43 |
| 5.10. Determinación de biomasa .....                                   | 44 |
| 5.10.1. Peso Húmedo .....                                              | 44 |
| 5.10.2. Peso seco.....                                                 | 45 |
| 5.11. Análisis Microbiológico .....                                    | 46 |
| 5.11.1. Medios de cultivo y condiciones de incubación .....            | 46 |
| 6. Resultados y discusión .....                                        | 47 |
| 7. Conclusiones .....                                                  | 54 |
| 8. Referencias bibliográficas .....                                    | 55 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Planta de maguey pulquero o manso ( <i>Agave Salmiana</i> ), caracterizada por hojas gruesas y carnosas dispuestas en rosetas sobre un tallo corto, típica de regiones semiáridas de México ..... | 22 |
| <b>Figura 2.</b> Principales subproductos derivados del aguamiel (a), pulque (b) y miel de agave (c) ( Muñiz-Márquez, 2013). .....                                                                                 | 25 |
| <b>Figura 3.</b> Diagramas del proceso de producción de jarabe de agave tradicional (a), semiindustrial (s) y dos ejemplos de industrial (i) .....                                                                 | 28 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 4.</b> Vista macroscópica de los granos de kéfir de agua con apariencia irregular y translúcida (a); micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (sem) que muestra la superficie del grano (b); detalle de la estructura interna porosa formada por la matriz de polisacáridos donde se alojan bacterias y levaduras responsables de la fermentación (c). ..... | 33 |
| <b>Figura 5.</b> Granos de kéfir de agua durante la fermentación .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 33 |
| <b>Figura 6.</b> Medición del pH del fermentado de kéfir utilizando un potenciómetro digital ...                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 39 |
| <b>Figura 7.</b> Determinación de brix del fermentado mediante refractómetro digital .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 39 |
| <b>Figura 8.</b> Proceso de titulación de la muestra de kéfir con NaOH para la determinación de acidez titulable .....                                                                                                                                                                                                                                                                    | 40 |
| <b>Figura 9.</b> Muestra de kéfir después del proceso de titulación con NaOH, observándose el viraje del indicador fenolftaleína .....                                                                                                                                                                                                                                                    | 40 |
| <b>Figura 10.</b> Lector de microplacas utilizado para la determinación de azúcares totales (Biobase Biobase-El10a). .....                                                                                                                                                                                                                                                                | 41 |
| <b>Figura 11.</b> Sistema de filtración con matraz kitasato y bomba al vacío empleando la determinación de biomasa húmeda .....                                                                                                                                                                                                                                                           | 42 |
| <b>Figura 12.</b> Granos de kéfir retenidos sobre papel filtro y colocados en cajas Petri para la determinación del peso húmedo durante el seguimiento fermentativo .....                                                                                                                                                                                                                 | 42 |
| <b>Figura 13.</b> Gránulos de kéfir después del secado en estufa utilizados para la determinación del peso seco. ....                                                                                                                                                                                                                                                                     | 43 |
| <b>Figura 14.</b> Siembra de muestras mediante el método de microgota en cajas Petri con medios selectivos para el análisis microbiológico fermentado .....                                                                                                                                                                                                                               | 44 |
| <b>Figura 15.</b> Contenido de humedad y azúcares totales en piloncillo, aguamiel y jarabe de agave. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                 | 44 |
| <b>Figura 16.</b> Cinética preliminar de acidificación: variación de pH en función del tiempo en fermentaciones con jarabe de agave (ja) y piloncillo (p) a 27 °C y 37 °C. ....                                                                                                                                                                                                           | 46 |
| <b>Figura 17.</b> Cinética de pH durante la fermentación de dos sustratos: piloncillo y jarabe, evaluados durante 72 horas. ....                                                                                                                                                                                                                                                          | 47 |
| <b>Figura 18.</b> Cinética de sólidos solubles totales (brix) durante la fermentación de piloncillo y jarabe a lo largo de 72 horas .....                                                                                                                                                                                                                                                 | 48 |

|                                                                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 19.</b> Cinética de peso seco (biomasa) durante la fermentación de piloncillo y jarabe a lo largo de 72 horas. ....                                   | 49 |
| <b>Figura 20.</b> Cinética de acidez titulable (%) durante la fermentación de piloncillo y jarabe a lo largo de 72 horas .....                                  | 50 |
| <b>Figura 21.</b> Cinética de azúcares totales (g/l) durante la fermentación de piloncillo (control) y jarabe (sustrato innovador) a lo largo de 72 horas ..... | 51 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla 1.</b> Subgéneros y especies del género <i>agave</i> con su distribución geográfica en México .....   | 19 |
| <b>Tabla 2.</b> Especies de agave y sus principales aplicaciones en alimentos, bebidas y otros productos. .... | 20 |
| <b>Tabla 3.</b> Cronograma de seguimiento para la cinética de fermentación principal. ....                     | 38 |

## Abstract

Water kefir is a non-dairy fermented beverage produced through the metabolic activity of lactic acid bacteria and yeasts present in kefir grains. Traditionally, its preparation is based on the use of refined sucrose or artisanal sugar sources derived from sugar cane, such as piloncillo, as the main carbon source. However, in recent years, there has been growing interest in evaluating alternative natural substrates that, in addition to supporting microbial growth, may also provide nutritional and functional value to the final product. In this study, the fermentation kinetics of water kefir were evaluated using syrup obtained from *Agave salmiana* aguamiel as the main substrate, while piloncillo was used as the control substrate. The fermentation process was monitored for 72 hours, with sampling every 6 hours to determine pH, total soluble solids (°Brix), titratable acidity, biomass production (wet and dry weight), and microbial growth using the micro drop method on selective media.

The results showed a progressive decrease in pH and sugar content, as well as an increase in biomass and microbial activity during the early stages of fermentation, indicating an adequate development of the fermentative process. The behavior observed with aguamiel syrup was comparable to that of the conventional substrate, suggesting that it may be considered a viable alternative for water kefir production. This study provides relevant information on the valorization of aguamiel as a traditional resource and its application in the development of non- dairy fermented beverages.

**Keywords:** Water kefir; fermentation kinetics; *Agave salmiana*; aguamiel syrup; sugar cane; piloncillo; alternative substrates; microbial growth.

## Resumen

El kéfir de agua es una bebida fermentada no láctea producida por la actividad metabólica de bacterias ácido lácticas y levaduras presentes en los gránulos de kéfir. Tradicionalmente, su elaboración se basa en el uso de sacarosa refinada o de fuentes artesanales de azúcar derivadas de la caña de azúcar, como el piloncillo, como principal fuente de carbono. Sin embargo, en años recientes ha surgido un creciente interés en evaluar sustratos naturales alternativos que, además de favorecer el crecimiento microbiano, pueden aportar valor nutricional y funcional al producto final. En este estudio, se evaluó la cinética de fermentación del kéfir de agua utilizando jarabe obtenido a partir de aguamiel de *Agave salmiana* como sustrato principal, empleando piloncillo como sustrato control.

El proceso de fermentación se monitoreó durante 72 horas, realizando muestreos cada 6 horas para la determinación de pH, sólidos solubles totales (brix), acidez titulable, producción de biomasa (peso húmedo y seco) y crecimiento microbiano mediante el método de microgota en medios selectivos.

Los resultados mostraron una disminución progresiva del pH y del contenido de azúcares, así como un incremento en la biomasa y en la actividad microbiana durante las primeras etapas de la fermentación, lo que indica un adecuado desarrollo del proceso fermentativo. El comportamiento observado con el jarabe de aguamiel fue comparable al del sustrato convencional, lo que sugiere que puede considerarse una alternativa viable para la producción de kéfir de agua. Este estudio aporta información relevante sobre la valorización del aguamiel como recurso tradicional y su aplicación en el desarrollo de bebidas fermentadas no lácteas.

**Palabras clave:** kéfir de agua; *Agave salmiana*; jarabe de aguamiel; sustratos alternativos; crecimiento microbiano.

## **1. Introducción**

La fermentación representa un proceso biotecnológico utilizado por diversas civilizaciones para la conservación y transformación de los alimentos mediante la actividad metabólica de microorganismos capaces de transformar compuestos orgánicos presentes en las materias primas, principalmente carbohidratos, en una amplia variedad de metabolitos. A través de este proceso, se generan productos con características sensoriales distintivas, mayor estabilidad microbiológica y modificaciones en su composición nutricional y funcional. (Laureys & De Vuyst, 2017). En la actualidad, la fermentación no solo se reconoce como una técnica de conservación, sino también como una herramienta biotecnológica relevante para el desarrollo de alimentos con propiedades funcionales y bebidas fermentadas asociadas con potenciales beneficios para la salud (Gülhan, 2023). En las últimas décadas, el incremento en la prevalencia de intolerancia a la lactosa y las alergias asociadas al consumo de productos lácteos, así como la creciente adopción de estilos de vida vegetarianos y veganos, han impulsado el desarrollo y la diversificación de matrices fermentables de origen vegetal para la producción de bebidas fermentadas no lácteas (Chomphoosee et al., 2025). En este contexto, el kéfir de agua ha emergido como una opción relevante dentro de las bebidas fermentadas no lácteas disponibles tanto en el ámbito de investigación científica como en el mercado de alimentos funcionales (Gülhan, 2023).

El kéfir de agua es una bebida fermentada de origen tradicional que se obtiene mediante la fermentación de una solución acuosa azucarada, utilizando granos de kéfir como cultivo iniciador. En los últimos años, este producto ha ganado relevancia debido a su composición microbiológica y a su potencial como bebida fermentada no láctea, lo que ha generado un

creciente interés tanto científico como de consumo (Laureys & De Vuyst, 2017). La bebida resultante se caracteriza por presentar una ligera efervescencia, un perfil sensorial ácidodulce y un bajo contenido de alcohol, atributos derivados de la actividad metabólica del consorcio microbiano presente en los granos de kéfir (Gülhan, 2023). La microbiota del kéfir de agua está constituida por una comunidad microbiana compleja integrada principalmente por bacterias ácido-lácticas, levaduras y, en menor proporción, bacterias ácido-acéticas, las cuales interactúan de manera simbiótica durante el proceso fermentativo (Gülhan, 2023). Esta relación de cooperación metabólica permite la transformación de los azúcares fermentables en diversos metabolitos, como ácido láctico, ácido acético, etanol y dióxido de carbono, los cuales influyen directamente en las características sensoriales, fisicoquímicas y funcionales de la bebida (Laureys & De Vuyst, 2017). Las levaduras contribuyen principalmente a la producción de etanol y CO<sub>2</sub>, mientras que las bacterias ácido-lácticas participan en la acidificación del medio y en la síntesis de metabolitos orgánicos, estableciendo interacciones metabólicas que favorecen la estabilidad del sistema fermentativo (Gülhan, 2023). La estabilidad de esta comunidad microbiana depende, en gran medida, de la disponibilidad de nutrientes, las condiciones de fermentación y del tipo de sustrato utilizado durante el proceso fermentativo (Laureys & De Vuyst, 2017).

Tradicionalmente, la elaboración del kéfir de agua se ha basado en el uso de la sacarosa refinada como principal fuente de carbono; sin embargo, en los últimos años ha surgido un interés creciente por la evaluación de sustratos alternativos de origen natural capaces de aportar azúcares fermentables junto con minerales, compuestos nitrogenados y otros nutrientes que pueden favorecer el crecimiento microbiano (Martinez-Gutierrez et al., 2017).

El uso de estos sustratos representa una estrategia para la obtención de bebidas fermentadas con mayor valor agregado, perfiles nutricionales diferenciados y potencial funcional mejorado (Chomphoosee et al., 2025).

En este sentido, el aguamiel se presenta como un sustrato de particular interés para la elaboración de bebidas fermentadas. El aguamiel es un líquido azucarado que se obtiene del maguey, particularmente de especies como *Agave salmiana*, y ha sido utilizado tradicionalmente en diversas regiones de México para la elaboración de bebidas fermentadas como el pulque (Valdivieso Solís et al., 2021). Su composición se caracteriza por un contenido significativo de azúcares fermentables, principalmente fructosa y glucosa, además de la presencia de fructanos, minerales, aminoácidos y compuestos bioactivos que pueden favorecer el crecimiento y la actividad metabólica de los microorganismos involucrados en la fermentación (Valdivieso Solís et al., 2021).

A partir del aguamiel se obtiene jarabe de agave mediante procesos de concentración y transformación de carbohidratos, lo que permite su utilización como fuente de azúcares en diferentes aplicaciones alimentarias (Valdivieso Solís et al., 2021). El jarabe de agave ha sido ampliamente empleado como edulcorante natural; no obstante, su potencial como sustrato en procesos fermentativos, particularmente en sistemas de fermentación simbiótica como el kéfir de agua, ha sido escasamente explorado (Ozuna & Franco-Robles, 2022). La evaluación de este tipo de sustratos alternativos resulta relevante desde el punto de vista tecnológico y científico, ya que permite analizar su influencia sobre la dinámica fermentativa y el perfil metabólico del microbiota del kéfir, además de contribuir al aprovechamiento de recursos tradicionales y al desarrollo de productos innovadores (Ozuna & Franco-Robles, 2022).

El estudio de la cinética de fermentación permite comprender el comportamiento metabólico de los microorganismos durante el proceso fermentativo, así como los cambios fisicoquímicos que ocurren a lo largo del tiempo (Gülhan, 2023) El análisis cinético proporciona información fundamental sobre la velocidad de consumo de azúcares, la formación de metabolitos, la disminución del pH, el crecimiento microbiano y la evolución de la actividad fermentativa, aspectos clave para la optimización y el control de procesos fermentativos (Valdivieso Solís et al., 2021).

Por lo anterior, el presente trabajo se enfoca en el estudio de la cinética de fermentación del kéfir de agua utilizando jarabe de agave elaborado a partir de aguamiel extraído de *Agave salmiana*, con el objetivo de evaluar su comportamiento fermentativo y su potencial aplicación en la elaboración de bebidas fermentadas no lácteas.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivo General**

Evaluar la cinética de fermentación del kéfir de agua utilizando jarabe obtenido a partir de aguamiel de *Agave salmiana* como sustrato, mediante el análisis de parámetros fisicoquímicos, producción de biomasa y crecimiento microbiano, comparándolo con piloncillo como sustrato control.

## **2.2. Objetivos Específicos**

- Determinar la cinética de crecimiento de los granos de kéfir (búlgaros) durante la fermentación, mediante la medición de peso húmedo, peso seco y peso constante.
- Evaluar los cambios en los parámetros fisicoquímicos del medio fermentativo, incluyendo pH, acidez titulable y grados brix, a lo largo del proceso de fermentación.
- Cuantificar el crecimiento y la viabilidad de las levaduras asociadas al kéfir de agua durante la fermentación, utilizando el método de microgota en medios de MRS y YPD.
- Comparar el comportamiento fermentativo del jarabe de agave salmiana con el piloncillo como sustrato control, con base en los parámetros fisicoquímicos, la producción de biomasa y el conteo microbiano.

### 3. Justificación

La elaboración del presente trabajo se justifica por el creciente interés en el desarrollo de bebidas fermentadas no lácteas, impulsado por cambios en los hábitos de consumo y por la necesidad de ofrecer alternativas alimentarias para personas con intolerancia a la lactosa, alergias a proteínas lácteas o que siguen estilos de vida vegetarianos y veganos (Gülhan, 2023). En este contexto, el kéfir de agua ha emergido como una bebida fermentada de interés científico y tecnológico, debido a su relativa facilidad de elaboración, bajo contenido alcohólico y a la presencia de un consorcio microbiano compuesto principalmente por bacterias ácido-lácticas y levaduras, cuya actividad metabólica contribuye a la formación de compuestos asociados con posibles propiedades funcionales (Chomphoosee et al., 2025).

Tradicionalmente, la fermentación del kéfir de agua se realiza utilizando sacarosa refinada como principal fuente de carbono; sin embargo, existe un interés creciente en la evaluación de sustratos alternativos de origen natural que, además de aportar azúcares fermentables, contengan minerales, compuestos nitrogenados u otros nutrientes capaces de favorecer el desarrollo microbiano y modificar la dinámica fermentativa (Martinez-Gutierrez et al., 2017).

La exploración de estos sustratos puede contribuir al desarrollo de bebidas fermentadas con perfiles nutricionales diferenciados y mayor valor agregado (Ozuna & Franco-Robles, 2022).

En este sentido, el aguamiel obtenido del maguey *Agave salmiana* representa un recurso de interés, ya que contiene azúcares fermentables, principalmente fructosa y glucosa, además de minerales y otros compuestos que pueden influir en el crecimiento microbiano durante la fermentación (Martinez-Gutierrez et al., 2017). Su transformación en jarabe de agave permite su utilización como sustrato en distintos procesos alimentarios, aunque su aplicación en sistemas fermentativos como el kéfir de agua ha sido relativamente poco estudiada (Ozuna

& Franco-Robles, 2022). Por otra parte, el análisis de la cinética de fermentación permite comprender el comportamiento metabólico de los microorganismos y los cambios fisicoquímicos que ocurren durante el proceso, como el consumo de azúcares y la producción de metabolitos (Laureys & De Vuyst, 2017). Este conocimiento resulta fundamental para la caracterización y optimización de procesos fermentativos, por lo que el presente estudio busca aportar información sobre el potencial del jarabe de agave como sustrato alternativo en la fermentación del kéfir de agua (Gülhan, 2023).

## **4. Antecedentes**

### **4.1. Agave**

#### **4.1.1. Género de agave**

El agave es un género de plantas endémico del continente americano, con una amplia distribución que se extiende desde el sur de Estados Unidos hasta Colombia y Venezuela, incluyendo algunas islas del Caribe. En la actualidad se reconocen aproximadamente 206 especies dentro del género *Agave*, de las cuales alrededor de 159 se encuentran en México y cerca de 119 son endémicas del país, lo que posiciona a México como el principal centro de origen, diversificación y domesticación de este género. (Castañeda-Nava et al., 2019).

Las plantas del género *Agave* se caracterizan por acumular en sus tejidos una cantidad considerable de carbohidratos no estructurales, principalmente fructanos, los cuales han sido aprovechados históricamente para diversos fines alimentarios e industriales (Diana B. Muñoz-Márquez, 2013) . Estos compuestos han servido como materia prima para la elaboración de bebidas alcohólicas tradicionales como tequila, mezcal y bacanora, lo que refleja la importancia cultural y económica del agave en distintas regiones de México (Maldonado-Guevara et al., 2018). Asimismo, dichos carbohidratos han sido utilizados para la obtención de productos como el jarabe de agave y la savia conocida como aguamiel, los cuales representaron una de las principales fuentes de endulzantes naturales durante la época prehispánica (Valdivieso Solís et al., 2021).

Desde tiempos prehispánicos, las especies del género *Agave* han desempeñado un papel fundamental en la vida cotidiana de diversas culturas de México. A lo largo de los siglos, estas plantas han sido aprovechadas como fuente de alimento, fibras y materias primas para la elaboración de bebidas fermentadas y destiladas, entre las que destacan el pulque, el mezcal

y el tequila (Castañeda-Nava et al., 2019). El aprovechamiento del agave para la producción de estas bebidas representa uno de los usos económicos y culturales más importantes de este recurso vegetal, actividad que ha sido documentada desde la época prehispánica y que continúa teniendo una gran relevancia social, cultural y económica en la actualidad (García-Aguirre et al., 2009).

Algunos de los estados donde se concentra la mayor producción de agave y sus principales especies cultivadas se presentan en la tabla correspondiente.

**Tabla 1.** Subgéneros y especies del género *agave* con su distribución geográfica en México

| Subgénero      | Especies                  | Área Geográfica                                            | Estados Principales                                                         |
|----------------|---------------------------|------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| <b>Agave</b>   | <i>A. salmiana</i>        | Sierra Madre                                               | Baja California                                                             |
|                | <i>A. atrovirens</i>      | Oriental                                                   | Durango                                                                     |
|                | <i>A. angustifolia</i>    | Sierra Madre                                               | Sonora                                                                      |
|                | <i>A. tequilana</i>       | Occidental<br>Tierras altas del sur<br>Sierra Madre<br>Sur | Chihuahua,<br>Coahuila,<br>Tamaulipas,<br>Guanajuato,<br>Querétaro, Jalisco |
| <b>Littaea</b> | <i>A. celsii albicans</i> | Centro y Este de México                                    | Hidalgo                                                                     |
|                | <i>A. xilonacantha</i>    |                                                            | Querétaro                                                                   |
|                | <i>A. difformis</i>       |                                                            | Puebla                                                                      |
|                | <i>A. striata</i>         |                                                            | Sonora y Durango                                                            |

Adaptado de Alducín-Martínez et al., 2022

Los principales usos socioeconómicos de diferentes especies de *Agave* se muestran en la sig. Tabla (Tabla 2).

**Tabla 2.** Especies de agave y sus principales aplicaciones en alimentos, bebidas y otros productos.

| <i>Especie de Agave</i> | <i>Principales usos</i> |
|-------------------------|-------------------------|
|-------------------------|-------------------------|

---

|                                                                                                             |                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
| <i>A. salmiana</i> , <i>A. mapisaga</i> ,                                                                   | Aguamiel, pulque y miel                     |
| <i>A. atrovirens</i> , <i>A. ferox</i> y <i>A. scabra</i>                                                   |                                             |
| <i>A. Tequilana</i> Weber var. <i>Azul</i>                                                                  | Tequila                                     |
| <i>A. salmiana</i> , <i>A. angustifolia</i> y <i>A. potatorum</i>                                           | Mezcal                                      |
| <i>A. lechugilla</i>                                                                                        | Fibras (lechuguillas) y fuente de saponinas |
| <i>A. salmiana</i> , <i>A. Tequilana</i>                                                                    | Gusanos de maguey y Biocombustibles         |
| <br><i>A. mapisaga</i> , <i>A. atrovirens</i>                                                               | <br>Alimentos                               |
| <br><i>A. lechuguilla</i> , <i>A. fourcroyodes</i>                                                          | <br>Tejeduría                               |
| <i>A. salmiana</i> , <i>A. Tequilana</i> , <i>A. americana</i>                                              | Saborizante                                 |
| <i>A. lechuguilla</i> , <i>A. americana</i> , <i>A. salmiana</i>                                            | Conservación de suelos                      |
| <br><i>A. americana</i> , <i>A. attenuata</i> , <i>A. victoriae-</i><br><i>reginae</i> , <i>A. parryi</i> . | <br>Usos ornamentales                       |

---

Adaptado de Muñiz-Márquez, D.B., 2013

#### 4.1.2. Especies de Agave utilizadas en la producción de bebidas alcohólicas

La diversidad del género *Agave* también se refleja en la amplia variedad de especies utilizadas en la elaboración de bebidas alcohólicas tradicionales en México. Se ha reportado que alrededor de 22 especies de *Agave* son empleadas en la producción de mezcal, las cuales se distribuyen principalmente en regiones semiáridas y presentan características morfológicas y fisiológicas que favorecen la acumulación de carbohidratos fermentables (Valdivieso Solís et al., 2021). Esta diversidad de especies contribuye a la variabilidad en las características sensoriales y químicas de las bebidas obtenidas, lo que refleja la estrecha relación entre la biodiversidad del género y las prácticas tradicionales de producción (MuñizMárquez, 2013).

#### **4.1.3. *Agave salmiana*: características, usos y variantes**

*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck es una de las especies de maguey más importantes en México, principalmente por su uso en la producción de aguamiel y pulque, este último obtenido mediante la fermentación natural del aguamiel. Además de su aprovechamiento tradicional, en diversas regiones del país esta especie también se utiliza para la elaboración de mezcal, lo que evidencia su relevancia económica y cultural. De acuerdo con Gentry (1982), *A. salmiana* presenta tres variantes taxonómicas principales: *A. salmiana* ssp. *salmiana*, la cual se encuentra principalmente bajo cultivo; *A. salmiana* ssp. *crassispina* (Trel.), que presenta una distribución predominantemente silvestre; y *A. salmiana* var. *ferox* (K. Koch), generalmente asociada a sistemas de cultivo. Estas variantes presentan diferencias morfológicas, ecológicas y de manejo que influyen en sus formas de aprovechamiento y en los sistemas tradicionales de producción (CastañedaNava et al., 2019).

#### **4.2. Aguamiel**

El aguamiel, también conocido como savia o jugo de agave, es un líquido de color amarillento y aroma herbáceo característico que se obtiene cuando el maguey alcanza su madurez fisiológica, generalmente entre los 8 y 10 años (Muñiz-Márquez, 2013). Su extracción se realiza mediante un manejo tradicional del maguey, el cual consiste en retirar las hojas tiernas centrales de la planta antes de que se desarrolle el escapo floral, conocido como “quiote”. Posteriormente, el centro del maguey se raspa y se forma una cavidad de aproximadamente 20 a 30 cm de profundidad, que funciona como reservorio para la acumulación del aguamiel. A través de este proceso, los tejidos del tallo del maguey exudan la savia, permitiendo

recolectar hasta aproximadamente 1500 L de aguamiel durante un periodo que puede extenderse entre 3 y 5 meses (Castañeda-Ovando et al., 2023).

Debido al proceso mediante el cual se obtiene el aguamiel, una parte importante de los nutrientes acumulados en la planta se transfiere a esta savia durante su extracción. Además, durante este proceso puede ocurrir una hidrólisis parcial de los carbohidratos presentes en el tejido del maguey, favorecida por la acción de microorganismos nativos asociados a la planta, lo que contribuye a modificar la composición química del aguamiel desde etapas tempranas (Castañeda-Ovando et al., 2023). Como resultado de estas características, solo ciertas especies de maguey resultan adecuadas para la producción y extracción de aguamiel. Entre ellas destaca el maguey pulquero o maguey manso (*Agave salmiana*), el cual se caracteriza por presentar hojas gruesas y carnosas dispuestas en forma de roseta sobre un tallo corto, cuyo extremo inferior generalmente no sobresale del nivel del suelo, rasgos que favorecen su manejo y aprovechamiento para la obtención de esta savia (Maldonado-Guevara et al., 2018).



**FIGURA 1.** Planta de maguey pulquero o manso (*Agave Salmiana*), caracterizada por hojas gruesas y carnosas dispuestas en rosetas sobre un tallo corto, típica de regiones semiáridas de México

A pesar de las variaciones reportadas en la composición del aguamiel, estas han sido asociadas principalmente con factores fisiológicos de la planta y condiciones ambientales,

los cuales influyen de manera directa en sus características fisicoquímicas (Ozuna et al., 2020). En particular, se ha demostrado que la concentración de azúcares simples y complejos presentes en el aguamiel, como fructosa, glucosa, sacarosa y fructooligosacáridos (FOS), puede variar significativamente dependiendo de la especie de agave y del estado de maduración de la planta (Benkeblia, 2013). Asimismo, el contenido de compuestos secundarios como las saponinas también presenta variaciones asociadas a estos factores, lo que contribuye a modificar la composición química del aguamiel (Leal-Díaz et al., 2016).

Estas variaciones no solo afectan la concentración total de los compuestos presentes en el aguamiel, sino también la estructura química de algunos de ellos, particularmente en el caso de los metabolitos secundarios (Castañeda-Ovando et al., 2023; Ozuna et al., 2020). En *Agave salmiana*, se ha observado que el contenido total de saponinas tiende a ser menor en plantas maduras en comparación con plantas inmaduras, mientras que el aguamiel obtenido de agaves en etapas tempranas de desarrollo presenta concentraciones relativamente mayores de estos compuestos (Leal-Díaz et al., 2016). En cuanto a la composición estructural de las saponinas presentes en *A. salmiana*, se ha reportado la presencia de diversas sapogeninas esteroidales, entre las que destacan kamogenina, manogenina, gentrogenina y ecogenina, compuestos que pueden influir en las propiedades biológicas y funcionales del aguamiel (Leal-Díaz et al., 2016).

#### **4.2.1. Usos tecnológicos del aguamiel**

Debido a su alto contenido de carbohidratos, el aguamiel representa una materia prima accesible y de bajo costo que ha sido aprovechada tradicionalmente para la producción de pulque, una bebida fermentada de gran importancia cultural en diversas regiones de México (Leal-Díaz et al., 2016). Además de este uso tradicional, el aguamiel también se ha empleado

en la elaboración de jarabes obtenidos mediante la evaporación parcial del agua con el fin de concentrar los azúcares presentes, proceso que permite incrementar su vida útil y ampliar sus aplicaciones dentro de la industria alimentaria (Valdivieso Solís et al., 2021). Estos procesos han contribuido a diversificar el aprovechamiento del aguamiel y a resaltar su potencial como materia prima para el desarrollo de distintos productos de interés alimentario. Durante la fermentación del aguamiel participan principalmente bacterias ácido-lácticas y levaduras, las cuales son responsables de la producción de ácido láctico y etanol, respectivamente (D. Álvarez-Ríos et al., 2020). Asimismo, se ha reportado la presencia de otros microorganismos como géneros bacterianos *Leuconostoc*, *Acetobacter* y *Gluconobacter*, que intervienen en la formación de exopolisacáridos y diversos ácidos orgánicos, contribuyendo de manera importante a las características sensoriales y fisicoquímicas del producto final (Leal-Díaz et al., 2016).

Si bien el proceso tradicional de elaboración del pulque mantiene principios similares en distintas regiones productoras, las variaciones en el microbiota presente y en las condiciones de fermentación pueden generar diferencias en la composición y calidad del producto obtenido, lo que dificulta su estandarización e industrialización (Escalante et al., 2016). A pesar de ello, el pulque ha despertado un creciente interés científico, principalmente debido a la presencia de microorganismos con potencial probiótico y a la generación de metabolitos asociados con posibles beneficios funcionales, lo que le confiere un valor adicional como alimento fermentado (D. Álvarez-Ríos et al., 2020). Por otra parte, además de su uso en la elaboración de pulque, el aguamiel también puede aprovecharse en la producción de jarabes concentrados mediante la evaporación parcial del agua, lo que permite concentrar sus azúcares y ampliar sus aplicaciones dentro del ámbito alimentario y tecnológico (Ozuna et al., 2020).

#### 4.2.2. Importancia del aguamiel en la industria alimentaria

La producción de aguamiel resulta relevante debido a las diversas aplicaciones industriales que presenta más allá de su uso tradicional en la elaboración de pulque. Actualmente, el aguamiel puede emplearse en la fabricación de jarabes ricos en fructosa y otros azúcares utilizados como edulcorantes naturales, así como en la producción de miel de maguey, productos que han ganado interés en el mercado de alimentos (Castañeda-Ovando et al., 2023). En algunos casos, estos edulcorantes han sido promovidos como alternativas al azúcar refinado en distintos productos alimentarios, aunque su aplicación depende de diversos factores tecnológicos y nutricionales (Ozuna et al., 2020).

Además, el pulque no solo se consume como bebida tradicional, sino que también se ha utilizado como ingrediente en la elaboración de diversos productos alimentarios, entre los que destaca el tradicional pan de pulque, el cual aprovecha las características fermentativas y sensoriales de esta bebida (Castañeda-Ovando et al., 2023).



**FIGURA 2.** Principales subproductos derivados del aguamiel (a), pulque (b) y miel de agave (c) (MUÑIZ-MÁRQUEZ, 2013).

#### 4.3. Jarabe de Agave

El jarabe de agave, también conocido como miel de maguey, se desarrolló como una alternativa para ampliar el aprovechamiento industrial de los azúcares presentes en el agave.

Este producto se obtiene mediante la evaporación parcial del agua del aguamiel o de extractos del agave, lo que provoca la concentración de sus componentes y la hidrólisis parcial de algunos carbohidratos, aumentando así la proporción de azúcares simples presentes (Carranza et al., 2015). Debido a su origen, el jarabe de agave puede conservar diversos compuestos presentes en la savia del maguey, tales como azúcares, minerales y aminoácidos (García-Aguirre et al., 2009).

Es importante diferenciar el jarabe de aguamiel del jarabe de agave, ya que ambos productos presentan diferencias en su materia prima, proceso de elaboración y composición química. El jarabe de agave se obtiene principalmente de *Agave tequilana*, y se produce mediante la hidrólisis térmica, ácida o enzimática de los fructanos presentes en el jugo extraído de la piña del agave, seguida de un proceso de concentración que puede alcanzar aproximadamente 80 brix. De acuerdo con la NOM-003-SAGARPA-2016, el jarabe de agave es una sustancia dulce natural obtenida por la hidrólisis de los fructanos del agave y está compuesto principalmente por fructosa y glucosa, lo que le confiere un mayor poder edulcorante en comparación con la sacarosa.

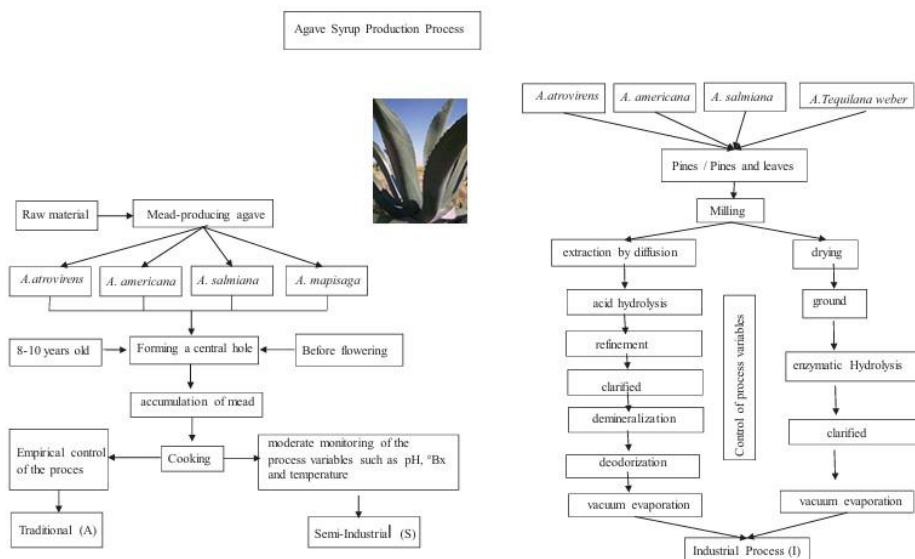
Aunque ambos productos provienen del agave, presentan diferencias importantes en su proceso de elaboración, composición química y características sensoriales. El jarabe de agave contiene aproximadamente entre 60 y 75 % de fructosa, 3 a 12 % de glucosa, menos del 5 % de fructanos y menos del 1 % de sacarosa. En contraste, el jarabe de aguamiel presenta un perfil composicional distinto, con 20 a 58% de sacarosa, 5 a 23 % de fructosa, 4 a 18 % de glucosa, 4 a 10 % de fructanos y alrededor de 3 a 4 % de proteínas. Estas diferencias indican que las propiedades nutricionales o funcionales atribuidas al jarabe de agave no pueden generalizarse al jarabe de aguamiel. En este último caso, su potencial funcional se relaciona con la presencia de compuestos como fructanos, aminoácidos con actividad antioxidante,

minerales y saponinas, los cuales han sido evaluados individualmente por sus posibles beneficios (Castañeda-Ovando et al., 2023).

El jarabe de agave puede obtenerse mediante distintos métodos de procesamiento, los cuales varían en su grado de tecnificación y control del proceso. De manera general, se han descrito tres tipos de procesos para su producción: tradicional, semiindustrial e industrial. El proceso tradicional consiste en el calentamiento directo de la savia o extracto de agave en recipientes colocados sobre fuego, con el objetivo de favorecer la hidrólisis de los carbohidratos y la evaporación del agua. En este tipo de proceso, el control de las condiciones se basa principalmente en el conocimiento empírico de los productores, y su aplicación se ha mantenido similar a la descrita en registros históricos desde la época colonial (MaldonadoGuevara et al., 2018).

Por otro lado, el proceso semiindustrial continúa empleando la hidrólisis térmica de la savia o extracto de agave, pero incorpora el control de variables fisicoquímicas como el pH, los sólidos solubles (brix) y la temperatura, lo que permite una mayor estandarización del producto y la implementación de prácticas básicas de control de calidad (Ozuna et al., 2020). Finalmente, el proceso industrial representa el método de producción más tecnificado, ya que utiliza la piña completa del agave, cruda o previamente cocida, e integra un control más preciso de las variables de proceso y el uso de tecnología especializada para la extracción e hidrólisis de los carbohidratos (Ozuna et al., 2020).

En la producción industrial del jarabe de agave, la hidrólisis de los carbohidratos puede llevarse a cabo mediante distintos métodos, entre los que se incluyen la hidrólisis enzimática, la hidrólisis ácida o la combinación de ambos procesos, con el objetivo de optimizar la conversión de fructanos en azúcares simples fermentables (García-Aguirre et al., 2009).



**FIGURA 3.** Diagramas del proceso de producción de jarabe de agave tradicional (a), semiindustrial (s) y dos ejemplos de industrial (i)

De acuerdo con la NOM-003-SAGARPA-2016 (2016), la legislación mexicana no establece una restricción específica respecto al tipo de especie de agave que puede emplearse como materia prima para la elaboración del jarabe de agave. Esto permite que diversas especies del género *Agave* sean utilizadas en su producción, entre las que se encuentran *Agave tequilana*, *Agave americana*, *Agave potatorum*, *Agave salmiana* y *Agave atrovirens* (MaldonadoGuevara et al., 2018). Sin embargo, la diversidad de especies empleadas, así como la variabilidad en los métodos de producción, la región de cultivo y la parte de la planta utilizada (savia, hojas o piña), da lugar a una amplia diversidad de productos comercializados bajo la denominación de jarabe de agave. Esta variabilidad puede influir directamente en las características fisicoquímicas, nutricionales y funcionales del producto final, generando diferencias significativas en su composición y propiedades (Ozuna & Franco-Robles, 2022). En los últimos años, los jarabes con alto contenido de fructosa han adquirido una relevancia creciente, consolidándose como uno de los edulcorantes más demandados por las industrias alimentaria y farmacéutica a nivel mundial. Este interés se debe principalmente a las ventajas

funcionales y tecnológicas que presentan frente a la sacarosa, tales como un mayor poder edulcorante, mayor solubilidad y un comportamiento tecnológico favorable en distintos sistemas alimentarios (Maldonado-Guevara et al., 2018). Asimismo, a estos jarabes se les han atribuido posibles efectos benéficos para la salud, relacionados con la presencia de compuestos bioactivos como fructanos y ciertos aminoácidos (Maldonado-Guevara et al., 2018), los cuales han sido asociados con actividad antioxidante, propiedades prebióticas y posibles efectos antimicrobianos, entre otros (Leal-Díaz et al., 2016).

#### **4.4. Kéfir de agua**

El kéfir de agua es una bebida fermentada no alcohólica o de bajo contenido alcohólico, caracterizada por una apariencia turbia, una textura ligeramente viscosa y efervescente, así como un color que varía de rubio a amarillento. Presenta un sabor ligeramente ácido, asociado principalmente a la producción de ácido láctico (aproximadamente 2%), junto con notas fermentativas atribuibles a las levaduras y un bajo contenido de alcohol (generalmente menor al 1%), además de un ligero dulzor residual derivado de los azúcares no fermentados (Chomphoosee et al., 2025). Tradicionalmente, esta bebida se obtiene mediante la fermentación de soluciones azucaradas, comúnmente sacarosa, a las que se pueden adicionar frutas frescas o secas, utilizando como cultivo iniciador los denominados gránulos de kéfir de agua.

Existen pocos datos concluyentes acerca del origen exacto del kéfir de agua. Sin embargo, algunos de los primeros reportes sobre estos gránulos datan de finales del siglo XIX, cuando la denominada “planta de ginger beer”, un consorcio microbiano empleado para la producción de bebidas fermentadas fue introducida en Gran Bretaña por soldados que regresaban de la Guerra de Crimea durante la década de 1890 (Gülhan, 2023). Desde entonces, diversas variantes de bebidas fermentadas a base de azúcares y cultivos similares

han sido objeto de interés científico debido a sus características microbiológicas y tecnológicas.

A diferencia del kéfir de leche, el cual se obtiene mediante la fermentación de leche por un consorcio microbiano relativamente estable, el kéfir de agua se produce mediante la fermentación de soluciones azucaradas utilizando gránulos que albergan un microbiota diverso compuesta por bacterias y levaduras. Durante su elaboración, una vez finalizada la fermentación, los gránulos se separan del líquido fermentado mediante un proceso de filtración o tamizado, lo que permite su reutilización en fermentaciones posteriores. Este procedimiento se conoce comúnmente como pitching. Por otra parte, cuando parte del líquido previamente fermentado se utiliza para inocular un nuevo lote junto con los gránulos, el proceso se denomina back-slopping (Laureys & De Vuyst, 2017) De manera general, la fermentación del kéfir de agua se lleva a cabo a temperaturas entre 20 y 25 °C durante un periodo de 24 a 72 horas, empleando soluciones de sacarosa con concentraciones aproximadas entre 6 y 10% y una proporción de gránulos cercana al 6–20 % (Arapović et al., 2023).

Diversos estudios han explorado el uso de diferentes sustratos para la producción de kéfir de agua. Por ejemplo, la fermentación de jugo y orujo de *Aronia melanocarpa* ha mostrado un alto potencial tecnológico, debido a su elevado contenido de compuestos fenólicos, flavonoides y antocianinas, además de presentar una adecuada aceptación sensorial (Bozkir et al., 2024). De manera similar, se ha reportado la utilización de suero desmineralizado en combinación con variedades de uva como Dimrit y Shiraz para la elaboración de esta bebida fermentada (Chomphoosee et al., 2025) En el contexto de fermentaciones tradicionales, también se ha empleado sacarosa como fuente principal de carbono complementada con

frutas secas, como higos, las cuales aportan minerales y compuestos que favorecen el crecimiento microbiano y la actividad fermentativa (Laureys & De Vuyst, 2017).

En cuanto a su composición microbiológica, los gránulos de kéfir de agua están constituidos principalmente por bacterias ácido-lácticas (LAB), bacterias ácido-acéticas (AAB) y levaduras, cuya interacción metabólica da lugar a una fermentación espontánea y a la formación de diversos metabolitos. Se ha identificado que algunas especies bacterianas, como *Lentilactobacillus hilgardii*, son capaces de sintetizar dextrano, un polisacárido formado por unidades de glucosa unidas principalmente mediante enlaces  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6), el cual contribuye a la estructura tridimensional característica de los gránulos. La enzima responsable de esta síntesis es la glucosiltransferasa, que cataliza la polimerización de glucosa a partir de sacarosa (Laureys & De Vuyst, 2017). La producción de kéfir de agua constituye un sistema fermentativo complejo que alberga una amplia diversidad microbiana. En este sentido, se han reportado estudios de aislamiento y secuenciación preliminar del genoma de cepas como *Oenococcus kitaharae* CRBO2176, obtenidas a partir de kéfir casero elaborado con higos, lo que evidencia la riqueza microbiana presente en este tipo de fermentaciones (Chomphoosee et al., 2025).

La diversidad de microorganismos presentes en los gránulos de kéfir de agua, así como los múltiples factores que influyen en su producción, entre ellos la fuente de azúcar, las condiciones de fermentación (tiempo y temperatura) y las limitaciones asociadas a su escalamiento industrial, representan aspectos clave para la caracterización y optimización de esta bebida fermentada. Además, durante la fermentación se generan diversos compuestos bioactivos, tales como polisacáridos, polipéptidos y ácidos orgánicos, entre otros metabolitos secundarios, los cuales contribuyen tanto a las propiedades tecnológicas del producto como a sus posibles efectos funcionales (Laureys & De Vuyst, 2017). Considerando los avances

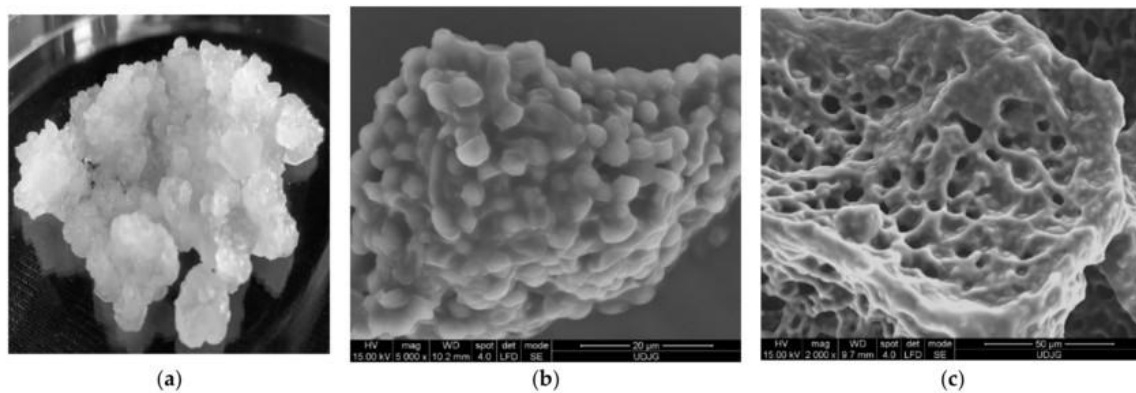
recientes en el estudio del kéfir de agua, particularmente en relación con su diversidad microbiana, sus propiedades tecnológicas y sus potenciales efectos promotores de la salud, resulta pertinente analizar de manera integral estos aspectos para comprender mejor su comportamiento fermentativo y sus aplicaciones potenciales en el desarrollo de nuevas bebidas funcionales.

#### **4.5. Propiedades tecnológicas del kéfir de agua**

Los gránulos de kéfir de agua presentan una estructura gelatinosa, elástica y de apariencia irregular, frecuentemente descrita como similar a pequeños agregados con forma de coliflor o partículas de “sal de roca”, con tonalidades que varían del blanco al grisáceo (Gülhan, 2023). En términos de composición, están constituidos aproximadamente por 45.% de polisacáridos tipo mucopolisacáridos, 34 % de proteínas y cerca del 4 % de lípidos, además de contener vitaminas del complejo B, vitamina K y minerales como calcio, fósforo y magnesio (Laureys & De Vuyst, 2017).

Los gránulos pueden conservarse para fermentaciones posteriores mediante diferentes técnicas, entre las que se incluyen refrigeración, liofilización, secado al vacío o congelación. Cuando se almacenan bajo condiciones adecuadas, estos cultivos pueden mantener su viabilidad y funcionalidad fermentativa. No obstante, la producción tradicional de kéfir de agua se realiza principalmente a pequeña escala, y aún existe información limitada respecto a la estandarización de las condiciones de cultivo y al uso de cultivos iniciadores definidos en procesos industriales (Laureys & De Vuyst, 2017). De manera tradicional, el proceso de elaboración consiste en adicionar entre 5 y 10 % (p/v) de gránulos a una solución de sacarosa al 5–10% (p/v), seguida de una fermentación a temperatura ambiente (20–25 °C) durante 24 a 72 horas, generalmente en condiciones con disponibilidad limitada de oxígeno (Bozkir et al., 2024). Es importante señalar que los gránulos requieren un medio con contenido mineral

adecuado para su óptimo desarrollo. Por esta razón, a nivel doméstico no se recomienda el uso de agua destilada, tratada por ósmosis inversa o filtrada con carbón activado, ya que su bajo contenido mineral puede afectar negativamente el crecimiento microbiano y la actividad fermentativa (Gülhan, 2023). Los granos de kéfir de agua presentan una morfología irregular y translúcida compuesta por una matriz de polisacáridos donde se desarrollan bacterias y levaduras. Esta estructura puede observarse tanto a nivel macroscópico como microscópico.



**FIGURA 4.** Vista macroscópica de los granos de kéfir de agua con apariencia irregular y translúcida **(a)**; micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (sem) que muestra la superficie del grano **(b)**; detalle de la estructura interna porosa formada por la matriz de polisacáridos donde se alojan bacterias y levaduras responsables de la fermentación **(c)**.



**FIGURA 5.** Granos de kéfir de agua durante la fermentación

#### **4.5.1. Desafíos en la producción de kéfir de agua**

Se ha reportado que durante la fermentación para la producción de kéfir de agua se generan aproximadamente 30 compuestos diferentes, entre los que se incluyen ácidos orgánicos, alcoholes, compuestos volátiles y polisacáridos, los cuales contribuyen a las propiedades sensoriales, tecnológicas y funcionales de la bebida fermentada (Chomphoosee et al., 2025). Asimismo, factores fisicoquímicos como la disponibilidad de calcio y la capacidad de amortiguación del medio influyen directamente en el crecimiento y la formación de los gránulos de kéfir. En particular, una mayor capacidad tampón favorece el incremento de la masa del grano, ya que la disminución excesiva del pH puede inhibir el proceso fermentativo al afectar la actividad de la enzima glucansucrasa producida por bacterias ácido-lácticas (LAB). Esta enzima es responsable de la síntesis de glucanos a partir de sacarosa, compuestos que constituyen un componente estructural fundamental de los gránulos de kéfir. Por lo tanto, cuando el pH del medio se reduce considerablemente, la actividad de la glucansucrasa disminuye, lo que se traduce en una menor producción de glucano y, en consecuencia, en una reducción de la masa de los gránulos (Bozkir et al., 2024). De igual manera, la disponibilidad de oxígeno constituye otro factor relevante en la fermentación del kéfir de agua, ya que la presencia o ausencia de este gas puede influir en la actividad metabólica de los distintos microorganismos que conforman el consorcio microbiano, particularmente levaduras y bacterias ácido-acéticas, lo que modifica la producción de metabolitos y las características finales de la bebida (Chomphoosee et al., 2025).

### **5. Metodología**

Los procedimientos experimentales se desarrollaron bajo un enfoque experimental de tipo cuantitativo, con el objetivo de elaborar un jarabe a partir de aguamiel extraído de Agave

salmiana y evaluar su aplicación como sustrato en la fermentación con gránulos de kéfir de agua. El estudio se llevó a cabo en el Departamento de Functional Foods and Nutrition de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila (UAC).

### **5.1.Recolección del Material**

El aguamiel utilizado en este estudio fue recolectado por productores locales del Ejido Las Mangas, perteneciente al municipio de Saltillo, en el estado de Coahuila de Zaragoza, México.

### **5.2.Descripción y obtención de los sustratos**

En este estudio se evaluó dos sustratos: piloncillo como control convencional y jarabe de agave como sustrato experimental. El jarabe de agave que se utilizó fue obtenido mediante un proceso artesanal, este consiste en la concentración del aguamiel (savia fresca del agave) a través de la aplicación prolongada de calor. (Maldonado-Guevara et al., 2018) .

Es importante destacar que en este tipo de método artesanal se llegan a alcanzar temperaturas que superan los 100°C, lo que puede llegar a modificar la composición de los azúcares y generar un oscurecimiento del jarabe debido a las reacciones de Maillard (Maldonado-Guevara et al., 2018; Martinez-Gutierrez et al., 2017).

### **5.3.Análisis de Temperatura y sólidos solubles totales (SST)**

Para ver la evolución de los dos sustratos, se realizaron mediciones sistemáticas de temperatura y SST. La temperatura fue medida utilizando un Termómetro convencional de vidrio de laboratorio con escala de -10 a 110°.

Los sólidos solubles totales (SST) se determinaron mediante un refractómetro digital ATAGO (modelo PAL-1, Japón). Y los valores obtenidos se expresaron en la escala de grados brix (brix).

#### 5.4. Proceso de concentración y obtención del jarabe

Para la obtención del jarabe se llevó a cabo mediante un proceso de concentración térmica artesanal del aguamiel. El líquido se sometió a una evaporación abierta bajo fuego directo, manteniendo una temperatura constante que, según la literatura, puede superar hasta los 100 °C. Durante esta etapa, el objetivo fue reducir el contenido de humedad del aguamiel hasta alcanzar el punto de saturación de azúcares (glucosa y fructosa) en un rango de 65 a 80° Brix. El final de la cocción se determinó mediante lecturas periódicas con el refractómetro Atago PAL-1. (Ozuna & Franco-Robles, 2022).

#### 5.5. Determinación del rendimiento del jarabe

Para la eficiencia del proceso de evaporación, se realizó la determinación del rendimiento (R%) del jarabe. Este cálculo es fundamental en procesos artesanales de *A. salmiana* para conocer la relación entre la materia prima inicial y el producto concentrado final. (Martínez-Gutiérrez et al., 2017) El rendimiento se calculó de la ecuación 1:

$$R (\%) = \frac{P_{final}}{P_{inicial}} * 100R \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

$P_{final}$  es el peso total del jarabe obtenido después de la concentración.

$P_{inicial}$  peso del aguamiel fresco utilizado al inicio del proceso.

#### 5.6. Evaluación de perfiles térmicos y sustratos de fermentación

Se realizó una evaluación comparativa entre el sustrato convencional (piloncillo) y el sustrato experimental (jarabe de agave). Para cada tratamiento se realizó a una concentración del 10 % (p/v) de cada sustrato. El medio fue distribuido en unidades experimentales en frascos de vidrio previamente esterilizados.

Las muestras se incubaron bajo dos perfiles térmicos: temperatura ambiente ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) y  $37^\circ\text{C}$ . Finalmente, tras la esterilización y antes de añadir los gránulos se verifico los valores de pH y sólidos solubles totales (brix).

## 5.7. Inoculación

Para la inoculación, se utilizó una proporción de gránulos del 10% (p/v), siguiendo protocolos estandarizados para la optimización de bebidas funcionales fermentadas con este consorcio. (Palacios-Castillo et al., 2025)

El proceso se inició formalmente a las 16:00 horas ( $t=0$ ), estableciendo este momento como el punto de partida de la cinética.

El monitoreo de la fermentación se llevó a cabo mediante mediciones periódicas de pH y brix en intervalos exactos de 24 horas (cada día a las 16:00 horas) durante 3 días.

### 5.7.1. Fermentación principal y esquema de monitoreo cinético

Esta fase se diseñó para documentar la dinámica metabólica del kéfir durante un periodo de 3 días realizando muestreos cada 6 horas durante las primeras 24 horas, posteriormente cada 12 horas hasta las 72 horas que fue el tiempo final.

Los horarios de muestreo fueron:

**Tabla 3.** Cronograma de seguimiento para la cinética de fermentación principal.

| Tiempo (h) | Hora del Día | Análisis Realizados                      |
|------------|--------------|------------------------------------------|
| 0h         | 09:00h       | Inoculación y parámetros iniciales       |
| 6h         | 15:00h       | Monitoreo fisicoquímico y microbiológico |
| 12h        | 21:00h       | Monitoreo fisicoquímico y microbiológico |
| 18h        | 03:00h       | Monitoreo fisicoquímico y microbiológico |
| 24h        | 09:00h       | Seguimiento de fase logarítmica          |
| 36h        | 21:00h       | Monitoreo de estabilización              |

|     |        |                          |
|-----|--------|--------------------------|
| 48h | 09:00h | Evaluación de maduración |
| 60h | 21:00h | Monitoreo Fisicoquímico  |
| 72h | 09:00h | Tiempo final del proceso |

En cada punto se realizaron análisis fisicoquímicos como: pH, los sólidos solubles totales (brix) y la acidez titulable, determinación de biomasa (peso húmedo y seco) y análisis microbiológico

### **5.8. Preparación del Medio de Cultivo y parámetros iniciales**

Se preparo una solución al 15% (p/v) de cada sustrato evaluado: jarabe de agave y piloncillo. La formulación del medio consistió en la disolución de los sustratos en agua potable. Una vez preparados, los medios se distribuyeron en frascos de vidrio previamente esterilizados. Previo a la inoculación se realizó la estandarización de los recipientes y materiales para la determinación de la biomasa mediante análisis gravimétricos. Lo que fue el peso de la caja Petri y el papel filtro (en estado seco). (López-Rojo et al., 2017).

### **5.9. Análisis fisicoquímicos del kéfir de agua**

#### **5.9.1. Determinación de pH y solidos solubles totales (SST)**

El pH fue determinado empleando un potenciómetro de precisión (Thermo-Scientific, ORION STAR A211). Esto es con el fin de asegurar la exactitud de los datos, este instrumento fue estandarizado antes de cada medición y toma de tiempo programada, con soluciones buffer estándar de 4, 7 y 10.



**FIGURA 6.** Medición del pH del fermentado de kéfir utilizando un potenciómetro digital

Los sólidos solubles totales se cuantificaron con un refractómetro digital (Atago, PAL-1, Japan) y expresando los resultados como brix.



**FIGURA 7.** Determinación de brix del fermentado mediante refractómetro digital

### 5.9.2. Determinación de Acidez Titulable

La acidez titulable del fermentado se determinó mediante la metodología de (Rajendar et al., 2020). Para ello, se tomaron 5 mL de muestra de kéfir y se colocaron en un matraz Erlenmeyer, a los cuales se añadieron aproximadamente 35 mL de agua destilada y 2 gotas de fenolftaleína como indicador. Posteriormente, la muestra se tituló con hidróxido de sodio (NaOH) 0.01N registrando el volumen utilizado para el cálculo con ecuación 2.

$$\frac{g \text{ ácido láctico}}{100mL} = \frac{mL NaOH * N NaOH * pEq}{Alícuota * 1000} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

mL NaOH: Volumen utilizado en la titulación

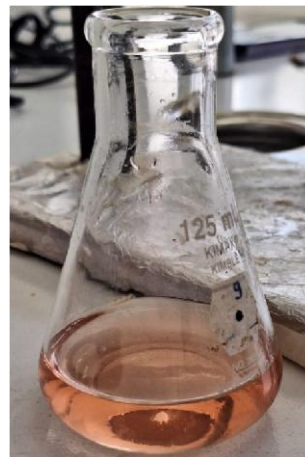
N NaOH es su normalidad (0.1N) pEq es el peso equivalente del ácido láctico (90.08g/meq)

y la alícuota corresponde a 5 mL de muestra.

Los resultados se reportaron como % de ácido láctico.



**FIGURA 8.** Proceso de titulación de la muestra de kéfir con NaOH para la determinación de acidez titulable



**FIGURA 1.** Muestra de kéfir después del proceso de titulación con NaOH, observándose el viraje del indicador fenolftaleína

### 5.9.3. Azúcares Totales

Los azúcares totales se determinaron mediante el método de antrona (Rajendar et al., 2020). Se tomaron alícuotas de 250  $\mu$ L de muestra en tubos Eppendorf de 2 mL, a las cuales se añadieron 500  $\mu$ L del reactivo de antrona. Las muestras se mezclaron mediante vortex y se incubaron en un baño caliente a 80°C durante 15 minutos. Posteriormente, se enfriaron en baño frío durante 5 minutos. Finalmente, se colocaron 280  $\mu$ L de cada muestra en una microplaca y se realizó la lectura a 630nm en un lector de microplacas (Biobase Biondustry BIOBASE-EL10A). Se utilizó glucosa para la elaboración de la curva de calibración.



**FIGURA 10.** Lector de microplacas utilizado para la determinación de azúcares totales (Biobase Biobase-EL10a).

#### **5.10. Determinación de biomasa**

Para el proceso de determinación de la biomasa de los gránulos durante el proceso de fermentación se procedió a determinar la biomasa de los gránulos en términos de peso húmedo y peso seco.

##### **5.10.1. Peso Húmedo**

En cada tiempo de muestreo, los gránulos de kéfir se separaron del medio de fermentación mediante filtración al vacío, para esto, los gránulos se separaron del medio de fermentación mediante filtración al vacío, utilizando un matraz Kitasato y un embudo de filtración con papel filtro circular previamente pesado. Esto con el fin de retirar el exceso de humedad superficial sin aplicar lavados adicionales, la filtración se mantuvo durante 2 minutos en lo que se retiraba todo el líquido. Posteriormente, el papel filtro con los gránulos retenidos se transfirió a una caja Petri de peso conocido, donde se registró la masa total del conjunto.

El peso húmedo de los gránulos se obtuvo por diferencias de masas, restando el peso de la caja Petri y del papel filtro. Finalmente, el crecimiento se expresó como el incremento porcentual respecto al peso inicial del inóculo. (Lee et al., 2025).



**FIGURA 11.** Sistema de filtración con matraz Kitasato y bomba al vacío empleando la determinación de biomasa húmeda



**FIGURA 12.** Granos de kéfir retenidos sobre papel filtro y colocados en cajas Petri para la determinación del peso húmedo durante el seguimiento

#### 5.10.2. Peso seco

Para la determinación del peso seco, las muestras se mantuvieron en las mismas cajas Petri para la cuantificación del contenido de materia seca mediante el secado en estufa. Los gránulos se sometieron a un proceso de deshidratación térmica a 100°C hasta alcanzar peso constante. Al finalizar el secado, las muestras se dejaron enfriar a una temperatura ambiente antes de su pesaje, con el fin de evitar variaciones en las mediciones debidas a diferencias de temperatura o corrientes de aire. Posteriormente, el peso seco se obtuvo por diferencia, restando el peso de la caja Petri y del papel filtro al peso total registrado tras el secado. Finalmente, el contenido de materia seca se expresó como porcentaje en masa (% m/m). (Laureys & De Vuyst, 2017).



**FIGURA 13.** Gránulos de kéfir después del secado en estufa utilizados para la determinación del peso seco.

### **5.11. Análisis Microbiológico**

El análisis microbiológico se realizó para comprobar la concentración de microorganismos con capacidad probiótica presente durante el proceso fermentativo del kéfir de agua. Comparando el uso de jarabe de Agave frente al piloncillo como sustrato control. Para ello, se tomaron muestras en los tiempos establecidos. A partir de estas, se realizaron diluciones seriadas en base diez empleando solución salina estéril NaCl 0.9.% como diluyente, técnica estandarizada para asegurar la estabilidad osmótica y la viabilidad del consorcio microbiano durante el procesamiento de las muestras. Para la determinación de la viabilidad se llevó a cabo mediante el método de la microgota, depositando alícuotas de 10  $\mu$ L de cada dilución sobre la superficie de medios de cultivos selectivos.

#### **5.11.1. Medios de cultivo y condiciones de incubación**

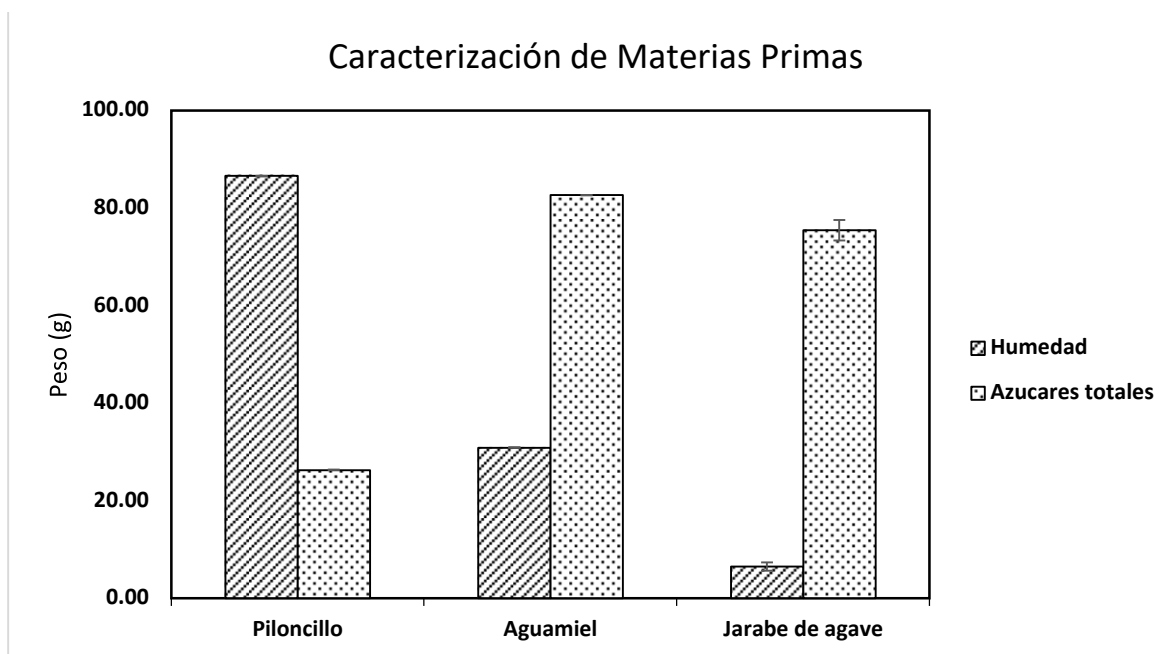
Para el recuento de las bacterias ácido lácticas (BAL), se utilizó agar Man-Rogosa Sharpe (MRS) incubado a 37°C durante 48 horas, mientras que para las levaduras se empleó agar extracto de levadura, peptona y dextrosa (YPD), con una incubación de 72 horas a 30°C. Los resultados de las unidades formadoras de colonias se procesaron y expresaron en escala logarítmica como log UFC/mL(Chomphoosee et al., 2025).



**FIGURA 14.** Siembra de muestras mediante el método de microgota en cajas Petri con medios selectivos para el análisis microbiológico fermentado

## 6. Resultados y discusión

Con el fin de conocer las características iniciales de los sustratos empleados, se realizó la caracterización, realizando mediciones de humedad y de azúcares totales en piloncillo, aguamiel y jarabe de agave. Los resultados obtenidos se presentan en la figura 15.



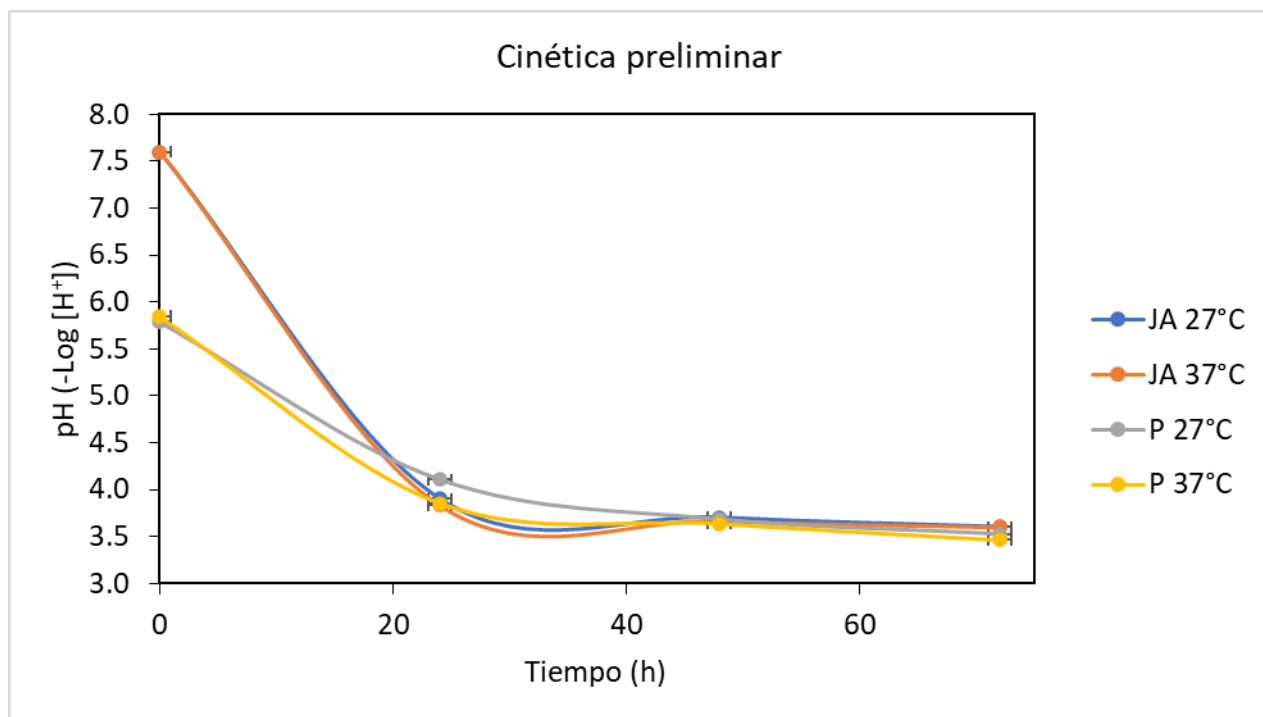
**FIGURA 15.** Contenido de humedad y azúcares totales en piloncillo, aguamiel y jarabe de agave.

Como se observa en la Figura 15, el piloncillo presentó el mayor contenido de humedad, con valores cercanos al 85 %, mientras que el jarabe de agave mostró el menor contenido, alrededor del 5-7 %. Por su parte, el aguamiel presentó un valor intermedio de humedad, aproximadamente del 30 %. En cuanto al contenido de azúcares totales, el aguamiel registro los valores más altos (alrededor del 80%), seguido del jarabe de agave ( $\approx 75\%$ ), mientras que el piloncillo presentó el menor contenido ( $\approx 25$ ).

Estas diferencias en la composición de las materias primas indican que el aguamiel y el jarabe de agave constituyen sustratos ricos en azúcares fermentables, lo cual puede influir significativamente en la cinética de fermentación, en comparación con el piloncillo.

### 6.1. Cinética Preliminar

Con el objetivo de evaluar el efecto de la temperatura y el tipo de sustrato sobre esta cinética de acidificación, se realizó esta cinética preliminar utilizando jarabe de agave (JA) y piloncillo (P) como el sustrato control, a temperaturas de 27°C y 37°C. los cambios en el pH en función del tiempo se presentan en la siguiente figura (Fig. 16).



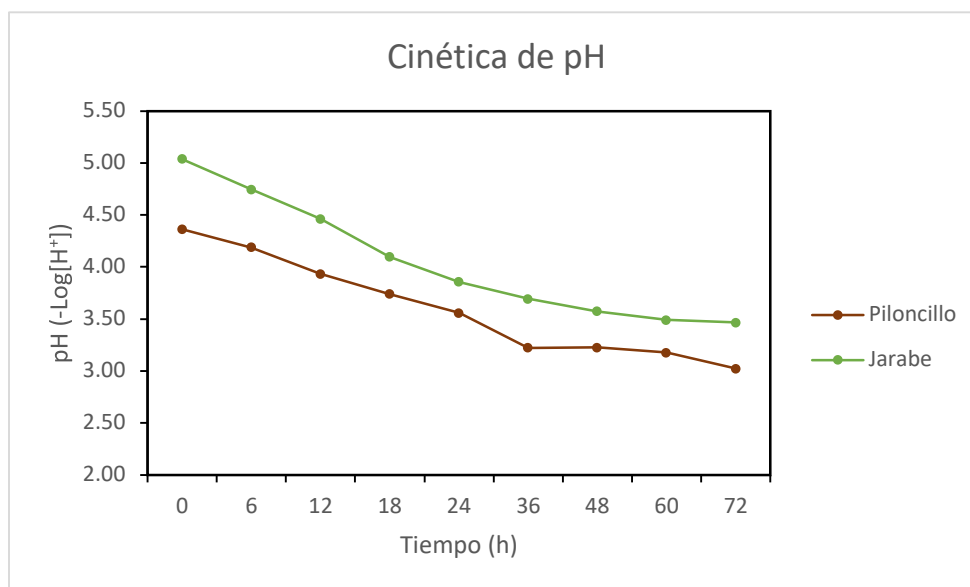
**FIGURA 16.** Cinética preliminar de acidificación: variación de pH en función del tiempo en fermentaciones con jarabe de agave (ja) y piloncillo (p). A 27°C y 37°C.

Como se observa en la Fig. 16, en todos los tratamientos se presentó una disminución del pH a lo largo del tiempo, indicando la producción de ácidos orgánicos durante el proceso de

fermentación. Inicialmente, los valores de pH fueron más altos en el jarabe de agave a 37°C, mientras que el piloncillo presentó valores ligeramente menores.

Durante las primeras 24 horas, se observó una disminución pronunciada del pH en todos los tratamientos, lo que sugiere una rápida actividad metabólica de los microorganismos. Posteriormente, entre las 24 y 48 horas, la disminución del pH fue más gradual, alcanzando valores cercanos a 3.6-3.7.

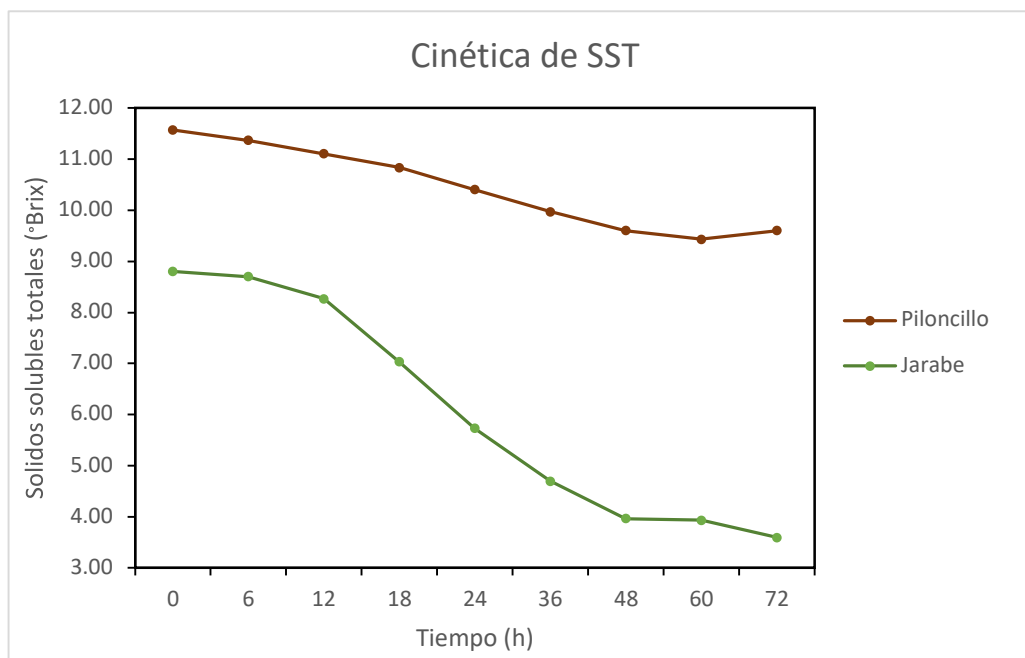
A las 72 horas, los sistemas tendieron a estabilizarse, con valores finales de pH alrededor de 3.5, siendo ligeramente menor en el tratamiento con piloncillo a 37°C. En general, la temperatura de 37°C favoreció una acidificación más rápida en comparación con 27°C, especialmente en las primeras etapas del proceso.



**FIGURA 17.** Cinética de pH durante la fermentación de dos sustratos: piloncillo y jarabe, evaluados durante 72 horas.

El pH mostró una disminución progresiva en ambos sustratos a lo largo de las 72 horas de fermentación. El piloncillo presentó una acidificación más pronunciada, pasando de un pH inicial aproximadamente 4.3 a valores cercanos a 3.0, mientras que el jarabe inició con un pH de 5.0, el cual disminuyó de manera gradual hasta alcanzar valores finales de

aproximadamente 3.5 al término de la cinética. Esta reducción del pH está asociada a la producción de ácidos orgánicos derivados del metabolismo microbiano. La diferencia observada entre ambos sustratos sugiere que la composición del medio influye en la generación de compuestos ácidos, siendo más notable en el sustrato control.

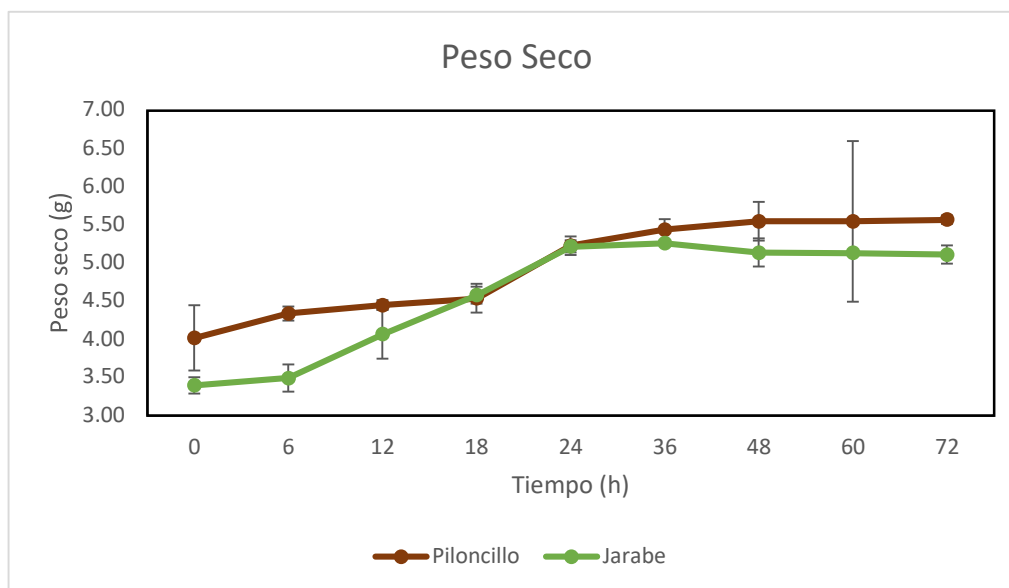


**FIGURA 18.** Cinética de sólidos solubles totales (brix) durante la fermentación de piloncillo y jarabe a lo largo de 72 horas

El piloncillo mostró una reducción gradual de los sólidos solubles totales, lo que indica un consumo de azúcares más lento y sostenido durante el proceso fermentativo.

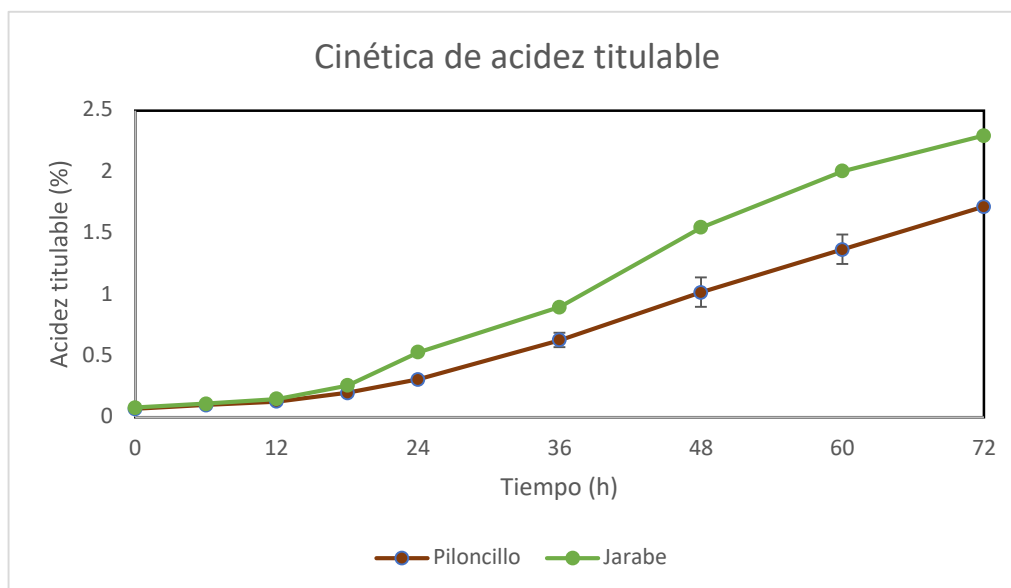
El jarabe presentó una disminución más pronunciada de brix, lo que sugiere una mayor velocidad de consumo de azúcares y, por lo tanto, una mayor actividad fermentativa.

Al comparar estos dos sustratos, el jarabe mostró una mayor reducción en los sólidos solubles totales en comparación con el piloncillo, lo que indica una mayor disponibilidad o asimilación de azúcares fermentables. Esto sugiere que el sustrato innovador favorece una mayor actividad metabólica de los microorganismos.



**FIGURA 19.** Cinética de peso seco (biomasa) durante la fermentación de piloncillo y jarabe a lo largo de 72 horas.

El análisis de la biomasa es un parámetro fundamental para determinar la salud y la vitalidad del consorcio microbiano del kéfir de agua. Durante el periodo de 72 horas, se observaron comportamientos diferenciados en el incremento de peso seco según el sustrato empleado. El piloncillo presentó un incremento sostenido, alcanzando una fase estacionaria después de las 48 horas, lo que sugiere una estabilización del crecimiento microbiano motivada por la limitación de nutrientes o acumulación progresiva de metabolitos secundarios. Por el contrario, el jarabe de agave promovió una fase exponencial significativamente más acelerada durante las primeras 24 horas, seguida de una etapa de estabilización con una ligera tendencia a al descenso hacia el final de la cinética. Esta rápida acumulación de biomasa inicial en el jarabe puede atribuirse a la alta bio-disponibilidad de azúcares simples (fructosa y glucosa) y micronutrientes presentes en el *Agave salmiana*.



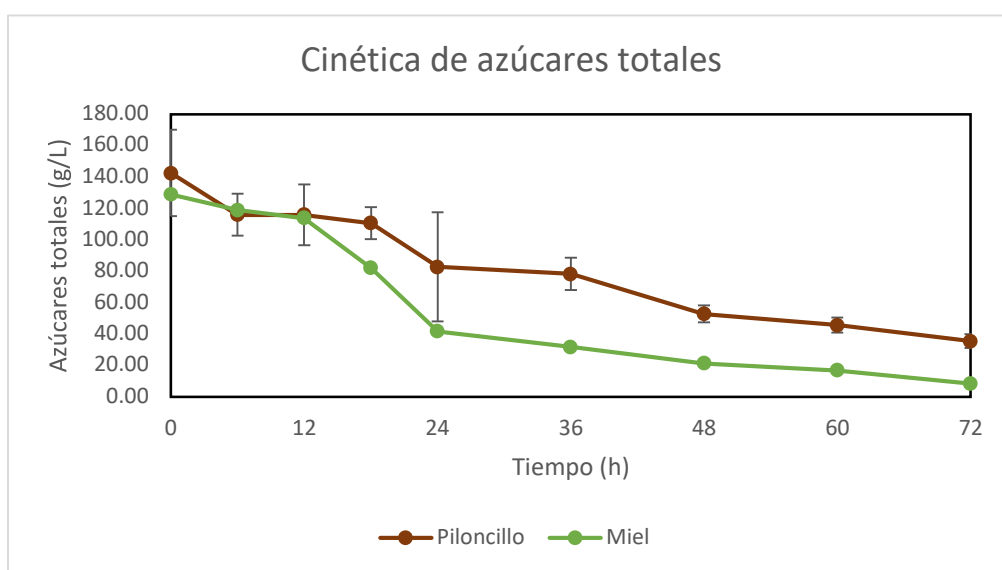
**FIGURA 20.** Cinética de acidez titulable (%) durante la fermentación de piloncillo y jarabe a lo largo de 72 horas

La acidez en ambos sustratos mostró un incremento progresivo a lo largo de las 72 horas de experimentación, lo cual es un indicador directo de la actividad metabólica del consorcio microbiano del kéfir.

El piloncillo presentó un incremento constante y sostenido, lo que refleja una producción continua de metabolitos durante todo el proceso fermentativo. Por su parte, el jarabe de agave mostró una cinética de acidificación significativamente más pronunciada, alcanzando valores finales superiores a los del sustrato control.

Este comportamiento está intrínsecamente relacionado con la producción de ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico y ácido acético, derivados del metabolismo de las bacterias ácido-lácticas (BAL) y bacterias ácido-acéticas (BAA) que integran los gránulos. De acuerdo con Chompoosee et al. (2025), el descenso del pH en bebidas de kéfir de agua guarda una correlación directa con el incremento total de ácidos orgánicos, identificando específicamente la presencia de ácidos orgánicos, identificando específicamente la presencia de ácido láctico, acético, cítrico y butírico como resultado de fermentación.

Asimismo, la mayor acidez alcanzado por el jarabe de agave sugiere una vía fermentativa más acelerada o una mayor eficiencia metabólica, probablemente favorecida por la biodisponibilidad de los azúcares simples presentes en el Agave salmiana. Estudios previos confirman que el uso de sustratos naturales ricos en carbohidratos fermentables potencia la capacidad de los microorganismos del kéfir para sintetizar estos compuestos orgánicos, los cuales no solo definen el perfil sensorial ácido de la bebida, sino que también actúan como agentes de conservación natural al reducir la viabilidad de microorganismo competidores.



**FIGURA 21.** Cinética de azúcares totales (g/l) durante la fermentación de piloncillo (control) y jarabe (sustrato innovador) a lo largo de 72 horas

El piloncillo presentó un consumo progresivo de azúcares a lo largo de la fermentación, evidenciando una actividad metabólica sostenida pero más lenta. El sustrato de jarabe mostró una reducción más acelerada de los azúcares totales, alcanzando concentraciones considerablemente más bajas en menor tiempo, lo que indica una mayor eficiencia en el consumo del sustrato. El sustrato (jarabe) presentó un mayor consumo de azúcares en comparación con el piloncillo, lo que sugiere una mayor disponibilidad de azúcares fermentables o una mejor asimilación por parte de los microorganismos.

## 7. Conclusiones

Se confirmó la viabilidad de jarabe de agave (*Agave salmiana*) como fuente de azúcar alternativa en la producción de kéfir de agua. Y se demostró una buena adaptación del consorcio/ del microorganismo, con este sustrato. Además, su composición favorece una mayor velocidad en la asimilación en los azúcares en comparación con el piloncillo. Esto se refleja en una disminución más rápida de los sólidos solubles totales (brix), lo que esto sugiere que los azúcares presentes en el agave, principalmente fructosa y glucosa, son fácilmente aprovechados por el microbiota del kéfir. Se observó que la temperatura de 37°C favorece la actividad metabólica, promoviendo una acidificación más rápida en comparación con la temperatura ambiente. Este comportamiento coincide con lo reportado en la literatura, donde se indica que temperaturas cercanas a la fisiológica estimulan el crecimiento de bacterias ácido-lácticas, como *Lactobacillus acidophilus*, incrementando la producción de ácidos orgánicos y reduciendo el tiempo de fermentación. Respecto al crecimiento de la biomasa, el jarabe de agave promovió un crecimiento exponencial más rápido durante las 24 horas, mientras que el piloncillo presentó una mayor estabilidad en etapas posteriores, alcanzando una fase estacionaria más prolongada. Esto sugiere que el jarabe de agave es más adecuado para fermentaciones rápidas, mientras que el piloncillo podría favorecer la conservación y la estabilidad de los gránulos a largo plazo. Finalmente, los resultados obtenidos no solo confirman la eficiencia del jarabe de agave como sustrato, sino que también resaltan el potencial del aguamiel como recurso de interés en el desarrollo de bebidas fermentadas no lácteas. Su aprovechamiento representa una alternativa viable para la innovación en alimentos funcionales, con características fisicoquímicas particulares y respaldo científico.

## 8. Referencias bibliográficas

- Alducin-Martínez, C., Ruiz Mondragón, K. Y., Jiménez-Barrón, O., Aguirre-Planter, E., Gasca-Pineda, J., Eguiarte, L. E., & Medellín, R. A. (2022). Uses, Knowledge and Extinction Risk Faced by Agave Species in Mexico. *Plants*, 12(1), 124.  
<https://doi.org/10.3390/plants12010124>
- Arapović, M., Puljić, L., Kajić, N., Banožić, M., Kartalović, B., Habschied, K., & Mastanjević, K. (2023). The Impact of Production Techniques on the Physicochemical Properties, Microbiological, and Consumer's Acceptance of Milk and Water Kefir Grain-Based Beverages. *Fermentation*, 10(1), 2.  
<https://doi.org/10.3390/fermentation10010002>
- Castañeda-Ovando, A., Moreno-Vilet, L., Jaimez-Ordaz, J., Ramírez-Godínez, J., PérezEscalante, E., Cruz-Guerrero, A. E., Contreras-López, E., Alatorre-Santamaría, S. A., Guzmán-Rodríguez, F. J., & González-Olivares, L. G. (2023a). Aguamiel syrup as a technological diversification product: Composition, bioactivity and present panorama. *Future Foods*, 8, 100249. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2023.100249>
- Chomphoosee, T., Seesuriyachan, P., Wattanutchariya, W., Tipbunjong, C., Therdtatha, P., techapun, C., Insomphun, C., Panti, N., & Moukamnerd, C. (2025). A novel beverage of coffee cherry (cascara) water kefir rich in antioxidants, bioactive compounds, and exhibiting promising antibacterial and sensory qualities. *LWT*, 219.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117539>
- Muñiz-Márquez, D. B. (2013). *Producción Artesanal del Aguamiel: Una Bebida Tradicional Mexicana cional Mexicana. Volumen 5.*
- García-Aguirre, M., Sáenz-Álvaro, V. A., Rodríguez-Soto, M. A., Vicente-Magueyal, F. J., Botello-Álvarez, E., Jimenez-Islas, H., Cárdenas-Manríquez, M., Rico-Martínez, R., &

- Navarrete-Bolaños, J. L. (2009). Strategy for Biotechnological Process Design Applied to the Enzymatic Hydrolysis of Agave Fructo-oligosaccharides To Obtain Fructose Rich Syrups. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(21), 10205–10210. <https://doi.org/10.1021/jf902855q>
- Gülhan, A. (2023). Usability of Carbon Sources as Sucrose, Honey and Agave Syrup in Fermentation of Lemonade with Water Kefir Grains. *Sugar Tech*, 25(6), 1542–1556. <https://doi.org/10.1007/s12355-023-01301-z>
- Laureys, D., & De Vuyst, L. (2017). The water kefir grain inoculum determines the characteristics of the resulting water kefir fermentation process. *Journal of Applied Microbiology*, 122(3), 719–732. <https://doi.org/10.1111/jam.13370>
- Leal-Díaz, A. M., Noriega, L. G., Torre-Villalvazo, I., Torres, N., Alemán-Escondrillas, G., López-Romero, P., Sánchez-Tapia, M., Aguilar-López, M., Furuzawa-Carballeda, J., Velázquez-Villegas, L. A., Avila-Nava, A., Ordáz, G., Gutiérrez-Urbe, J. A., SernaSaldivar, S. O., & Tovar, A. R. (2016). Aguamiel concentrate from Agave salmiana and its extracted saponins attenuated obesity and hepatic steatosis and increased Akkermansia muciniphila in C57BL6 mice. *Scientific Reports*, 6(1), 34242. <https://doi.org/10.1038/srep34242>
- Lee, J. Y., Kim, H., Yang, T. hui, Oh, S., Kim, G. J., Park, S., Lee, S., Mok, I. K., Kang, D. H., & Kim, D. (2025). Enhancing the biochemical and functional properties of water kefir: Comparative effects of different water sources with emphasis on deep ocean water. *Journal of Functional Foods*, 132. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2025.106965>
- López-Rojo, J. P., García-Pinilla, S., Hernández-Sanchez, H., & Cornejo-Mazón, M. (2017). Estudio de la fermentación de kéfir de agua de piña con tibicos. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16, 405–414.

- Maldonado-Guevara, B. I., Martín del Campo, S. T., & Cardador-Martínez, A. (2018). Production Process Effect on Mexican Agave Syrups Quality: A Preliminary Study. *Journal of Food Research*, 7(3), 50. <https://doi.org/10.5539/jfr.v7n3p50>
- Martinez-Gutierrez, F., Ratering, S., Juárez-Flores, B., Godinez-Hernandez, C., GeisslerPlaum, R., Prell, F., Zorn, H., Czermak, P., & Schnell, S. (2017). Potential use of Agave salmiana as a prebiotic that stimulates the growth of probiotic bacteria. *LWT*, 84, 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.044>
- Ozuna, C., & Franco-Robles, E. (2022). Agave syrup: An alternative to conventional sweeteners? A review of its current technological applications and health effects. En *LWT* (Vol. 162). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113434>
- Ozuna, C., Trueba-Vázquez, E., Moraga, G., Llorca, E., & Hernando, I. (2020). Agave syrup as an alternative to sucrose in muffins: Impacts on rheological, microstructural, physical, and sensorial properties. *Foods*, 9(7). <https://doi.org/10.3390/foods9070895>
- Palacios-Castillo, A. E., Campoverde-Quilca, T. N., Núñez-Pérez, J., Burbano-García, J. L., Pineda-Flores, H. M., Espín-Valladares, R. C., Zárate-Baca, S., & Pais-Chanfrau, J.-M. (2025). Optimising a Functional Beverage from Quinoa and Cherimoya Mixtures Fermented with Water Kefir Grains. *Foods*, 14(20), 3464. <https://doi.org/10.3390/foods14203464>
- Rajendar, B., Mulagalapati, R., Reddy, M. V. N. J., Patri, S., Karthik, Y. K., & Matur, R. V. (2020). 2-Phenoxyethanol: A novel reagent for improved sensitivity of carbohydrate quantification. *Analytical Biochemistry*, 595. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.113624>
- Valdivieso Solís, D. G., Vargas Escamilla, C. A., Mondragón Contreras, N., Galván Valle, G. A., Gilés-Gómez, M., Bolívar, F., & Escalante, A. (2021). Sustainable Production of

Pulque and Maguey in Mexico: Current Situation and Perspectives. En *Frontiers in Sustainable Food Systems* (Vol. 5). Frontiers Media S.A.

<https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.678168>