

Alimentos fermentados: microbiología, nutrición, salud y cultura

Editores:
Alejandro Ferrari
Gabriel Vinderola
Ricardo Weill



ASOCIACIÓN CIVIL DANONE PARA LA NUTRICIÓN, LA SALUD Y LA CALIDAD DE VIDA
MIEMBRO DE LA RED
INSTITUTO DANONE
INTERNACIONAL
CONO SUR
REGIÓN CONO SUR

ALIMENTOS FERMENTADOS

MICROBIOLOGÍA, NUTRICIÓN, SALUD Y CULTURA

Tapa y contratapa: Victoria Weill

Diseño de interiores: Blaunt

Edición general: Alejandro Ferrari

Ferrari, Alejandro

Alimentos fermentados : microbiología, nutrición, salud y cultura / Alejandro Ferrari ; Gabriel Vinderola ; Ricardo Weill. - 1a ed. - Ciudad Autónoma de Buenos Aires : Instituto Danone del Cono Sur, 2020.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga
ISBN 978-987-25312-2-5

1. Microorganismo. 2. Salud. 3. Alimentación. I. Vinderola, Gabriel. II. Weill, Ricardo. III. Título.
CDD 664.001579

Quedan rigurosamente prohibidas, sin la autorización escrita de los titulares del copyright, bajo las sanciones establecidas en las leyes, la reproducción total o parcial de esta obra por cualquier medio o procedimiento, comprendidos la reprografía y el tratamiento informático, y la distribución de ejemplares de ella mediante alquiler o préstamo públicos.

1ª edición, Asociación Civil Danone para la Nutrición, la Salud y la Calidad de Vida, 2020.

© de todas las ediciones
Asociación Civil Danone para la Nutrición,
la Salud y la Calidad de Vida
Moreno 877 - Piso 13 - C.A.B.A.
secretaria@institutodanoneconosur.org

Queda hecho el depósito que previene la Ley 11.723
Impreso en Argentina – Printed in Argentina

ALIMENTOS FERMENTADOS

MICROBIOLOGÍA, NUTRICIÓN, SALUD Y CULTURA

Danone Cono Sur // 2020

Editores:

Alejandro Ferrari

Gabriel Vinderola

Ricardo Weill



ASOCIACIÓN CIVIL DANONE PARA LA NUTRICIÓN, LA SALUD Y LA CALIDAD DE VIDA
MIEMBRO DE LA RED:
INSTITUTO DANONE
INTERNACIONAL
REGIÓN CONO SUR

ÍNDICE

PRÓLOGO	17
• CAPÍTULO 1	
LA FERMENTACIÓN: UNA MIRADA ANTROPOLÓGICA	19
I. INTRODUCCIÓN	21
II. PRINCIPALES HITOS HISTÓRICOS	22
II.A. LOS GRANDES SIMIOS: EL AGRADO POR EL ETANOL	24
II.B. LOS HOMBRES PREHISTÓRICOS Y LAS BEBIDAS ALCOHÓLICAS FERMENTADAS: CERVEZA Y RITUAL	25
III. BEBIDAS Y ALIMENTOS FERMENTADOS EN MESOAMÉRICA Y AMÉRICA DEL SUR: DIVERSIDAD DE PRODUCTOS	26
III.A. EL PULQUE Y EL POZOL: NUTRICIÓN CON Y SIN ALCOHOL	27
III.B. EL CACAO Y EL CHOCOLATE: SABOR, ENERGÍA Y RITUAL	28
III.C. LA LECHE Y LOS PRODUCTOS LÁCTEOS FERMENTADOS: SIN PRESENCIA EN LA AMÉRICA DEL SUR PREHISPÁNICA	29
IV. BEBIDAS Y ALIMENTOS FERMENTADOS EN EL CERCANO ORIENTE	30
IV.A. LA CERVEZA Y EL PAN, BÁSICOS Y SAGRADOS	30
IV.B. EL VINO; LO PERMITIDO Y LO PROHIBIDO	31
IV.C. LAS BEBIDAS FERMENTADAS LÁCTEAS. PRESERVACIÓN Y BENEFICIOS PARA LA SALUD	32
V. PESCADOS FERMENTADOS EN EL ÁRTICO Y ESCANDINAVIA; QUESOS DE CABRA EN AMÉRICA DEL SUR. IMPORTANCIA DE LO SOCIAL	34
VI. ALGUNAS INVARIANTES	35

VII. LA REVOLUCIÓN INDUSTRIAL: PÉRDIDAS Y GANANCIAS. LOUIS PASTEUR.	36
VIII. LOS ÚLTIMOS 100 AÑOS	38
IX. CONCLUSIONES	39
X. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	39
XI. BIBLIOGRAFÍA CITADA	40
• CAPÍTULO 2	
VARIEDAD DE ALIMENTOS FERMENTADOS EN JAPÓN Y OTROS PAÍSES DEL ESTE ASIÁTICO, Y LOS MICROORGANISMOS INVOLUCRADOS EN SU FERMENTACIÓN	43
I. INTRODUCCIÓN	45
II. BEBIDAS ALCOHÓLICAS	45
II.A. SAKE	45
II.B. SHOCHU	48
II.C. AWAMORI	49
II.D. BEBIDAS ALCOHÓLICAS DE CHINA Y COREA DEL SUR	49
III. CONDIMENTOS FERMENTADOS	50
III.A. MISO (PASTA DE POROTOS DE SOJA)	50
III.B. SHOYU (SALSA DE SOJA)	50
III.C. KUROZU (KUROSU)	51
III.D. CONDIMENTOS FERMENTADOS EN CHINA Y COREA DEL SUR	52
IV. VEGETALES FERMENTADOS	52
IV.A. VEGETALES FERMENTADOS ÚNICOS DE JAPÓN	52
IV.B. VEGETALES FERMENTADOS DE CHINA Y COREA DEL SUR	54
V. OTROS	54
VI. CONCLUSIONES	56
VII. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	56
VIII. BIBLIOGRAFÍA CITADA	56

• CAPÍTULO 3

INTRODUCCIÓN A LA MICROBIOTA INTESTINAL: SU ROL EN LA SALUD Y LA ENFERMEDAD	61
I. INTRODUCCIÓN	63
II. LA MICROBIOTA INTESTINAL, UN ÓRGANO ÚNICO	63
III. COMPOSICIÓN Y DISTRIBUCIÓN	65
IV. CONFORMACIÓN Y EVOLUCIÓN DE LA MICROBIOTA INTESTINAL	68
V. FUNCIONES DE LA MICROBIOTA INTESTINAL	74
V.A. FUNCIONES INMUNOLÓGICAS	74
V.B. FUNCIONES ESTRUCTURALES	76
V.C. FUNCIONES NUTRICIONALES	78
V.D. FUNCIONES METABÓLICAS.	79
VI. LA MICROBIOTA INTESTINAL EN LA SALUD Y EN LA ENFERMEDAD	81
VII. ENFERMEDAD Y MICROBIOTA INTESTINAL	82
VII.A. INTRUSOS MICROBIANOS EN EL TRACTO GASTRO-INTESTINAL (TGI)	82
VII.B. ALTERACIONES DEL TGI	83
VIII. ¿CÓMO LOGRAR UNA MBT SANA?	88
IX. CONCLUSIONES	89
X. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	89
XI. BIBLIOGRAFÍA CITADA	89

• CAPÍTULO 4

CONSUMO DE LECHE FERMENTADAS PROBIÓTICAS Y SU IMPACTO SOBRE EL SISTEMA INMUNE	97
I. INTRODUCCIÓN	99
II. ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA INMUNE DE MUCOSA INTESTINAL	99
II.A. INDUCCIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE EN EL INTESTINO	101
III. PROBIÓTICOS Y SALUD	102

III.A. PROBIÓTICOS EN LA MODULACIÓN DEL SISTEMA INMUNE INTESTINAL	103
III.B. PROBIÓTICOS Y SUS EFECTOS SOBRE CÉLULAS DEL TIMO	107
IV. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	108
V. BIBLIOGRAFÍA CITADA	108
• CAPÍTULO 5	
LECHES FERMENTADAS, YOGURES Y PROBIÓTICOS	117
I. UNA INTRODUCCIÓN A LA TRANSFORMACIÓN DE LA LECHE EN YOGUR	119
II. ¿CÓMO EMPEZÓ EL HOMBRE A CONSUMIR LECHES FERMENTADAS Y YOGURES?	119
III. EL RECORRIDO DEL YOGUR DESDE LA ANTIGÜEDAD HASTA NUESTROS DÍAS	120
IV. PROBIÓTICOS: DE ARGENTINA AL MUNDO	121
V. LECHES FERMENTADAS Y YOGURES CON PROBIÓTICOS	122
VI. RECUENTO DE CÉLULAS VIABLES DE PROBIÓTICOS EN YOGURES	124
VII. EL YOGUR Y SU POTENCIAL RELEVANCIA EN LAS GUÍAS ALIMENTARIAS.	125
VIII. CONCEPCIONES POPULARIZADAS ENTORNO AL YOGUR: ANTIBIÓTICOS, CADENA DE FRÍO Y RIESGO DE SÍNDROME URÉMICO HEMOLÍTICO	127
IX. CONCLUSIONES	130
X. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	130
XI. BIBLIOGRAFÍA CITADA	131
• CAPÍTULO 6	
EL KEFIR Y LOS ALIMENTOS FERMENTADOS ARTESANALES	135
I. INTRODUCCIÓN	137
II. EL KEFIR	137
III. EFECTOS BENEFICIOSOS SOBRE LA SALUD ATRIBUIDOS AL KEFIR	142
IV. KEFIR DE AGUA	145
V. KOMBUCHA	149
VI. CONCLUSIONES	152

VII. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	153
VIII. BIBLIOGRAFÍA CITADA	153
• CAPÍTULO 7	
EMBUTIDOS FERMENTADOS CÁRNICOS: CONTRIBUCIÓN DE BACTERIAS LÁCTICAS EN LA CALIDAD GLOBAL	165
I. INTRODUCCIÓN	167
II. EMBUTIDOS FERMENTADOS Y CURADOS	168
III. FUNCIÓN DE LOS ADITIVOS EN LA ELABORACIÓN DE EMBUTIDOS FERMENTADOS	169
IV. TIPOS DE EMBUTIDOS FERMENTADOS	169
V. MADURACIÓN DE EMBUTIDOS FERMENTADOS; IMPORTANCIA DE LA PROTEÓLISIS CÁRNICA	170
VI. MICROBIOTA DE LOS EMBUTIDOS FERMENTADO-CURADOS	171
VI.A. BACTERIAS LÁCTICAS EN EMBUTIDOS FERMENTADOS ESPONTÁNEAMENTE	172
VI.B. COCOS GRAM POSITIVOS, CATALASA POSITIVOS, EN EMBUTIDOS FERMENTADOS ESPONTÁNEAMENTE	173
VII. CULTIVOS INICIADORES PARA PRODUCTOS CÁRNICOS	174
VII.A. PROPIEDADES DE LOS CULTIVOS INICIADORES	174
VII.B. CULTIVOS INICIADORES AUTÓCTONOS	175
VII.B.1. <i>LACTOBACILLUS CURVATUS</i> CRL705, UNA CEPA AUTÓCTONA ARGENTINA	176
VIII. CARNES FERMENTADAS EN AMÉRICA LATINA	177
IX. SITUACIÓN DEL SECTOR PRODUCTOR DE EMBUTIDOS EN ARGENTINA	177
X. TENDENCIAS DE CONSUMO DE EMBUTIDOS FERMENTADOS	178
XI. PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS, MICROBIOLÓGICOS Y ORGANOLÉPTICOS COMO DESCRIPTORES DE CALIDAD EN EMBUTIDOS FERMENTADOS ARGENTINOS	179
XII. EVOLUCIÓN DE LA PROTEÓLISIS DURANTE LA FERMENTACIÓN Y MADURACIÓN DE EMBUTIDOS FERMENTADOS ARGENTINOS	181
XIII. CONTRIBUCIÓN DE UN CULTIVO INICIADOR AUTÓCTONO A LA PROTEÓLISIS CÁRNICA, ESTUDIOS <i>IN VITRO</i>	182

XIV. ROL DEL CULTIVO INICIADOR AUTÓCTONO EN LA CALIDAD DE EMBUTIDOS FERMENTADOS	
ELABORADOS EN PLANTA PILOTO	186
XV. CONCLUSIONES	187
XVI. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	188
XVII. BIBLIOGRAFÍA CITADA	188
• CAPÍTULO 8	
FERMENTACIÓN LÁCTICA DE CEREALES Y GRANOS ANCESTRALES ANDINOS	195
I. INTRODUCCIÓN	197
II. CEREALES	198
III. PSEUDOCEREALES	200
IV. FERMENTACIÓN	201
IV.A. FERMENTACIÓN DE CEREALES Y PSEUDOCEREALES	202
IV.A.1. MASA MADRE	202
V. ALIMENTOS FERMENTADOS DERIVADOS DE CEREALES	209
V.A. PANIFICADOS	209
V.B. PASTAS	210
V.C. ALIMENTOS Y BEBIDAS AFRICANOS TRADICIONALES DERIVADOS DE CEREALES FERMENTADOS	212
V.D. ALIMENTOS Y BEBIDAS LATINOAMERICANOS TRADICIONALES DERIVADOS DE CEREALES FERMENTADOS	216
VI. CONCLUSIONES	218
VII. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	218
VIII. BIBLIOGRAFÍA CITADA	218
• CAPÍTULO 9	
HORTALIZAS Y LEGUMBRES FERMENTADAS	231
I. INTRODUCCIÓN	233
II. EL LABERINTO METABÓLICO DE LA FERMENTACIÓN DE VEGETALES	234

III. EL ARTE O LA CIENCIA DE FERMENTAR VEGETALES	239
III.A. FERMENTACIÓN ESPONTÁNEA	240
III.B. FERMENTACIÓN CONTROLADA	242
IV. MODALIDADES DE FERMENTACIÓN DE LOS VEGETALES	245
IV.A. FERMENTACIÓN SUMERGIDA (FSM)/ FERMENTACIÓN LÍQUIDA (FL)	245
IV.A.1. SALADO EN SECO	246
IV.A.2. SALADO EN SALMUERA	246
IV.A.3. VEGETALES FERMENTADOS NO SALADOS	247
IV.B. FERMENTACIÓN EN SUSTRATO SÓLIDO (FSS)	247
V. LAS ESTRELLAS DEL MERCADO: VEGETALES FERMENTADOS TRADICIONALES Y EMERGENTES	249
V.A. PEPINOS CHICOS O PEPINILLOS	250
V.B. CHUCRUT	250
V.C. ACEITUNAS	251
V.D. SALSA DE SOJA	252
V.E. KIMCHI	253
V.F. SILOS PARA CONSUMO ANIMAL	254
V.G. LEGUMBRES FERMENTADAS	256
V.H. VEGETALES FERMENTADOS DE AMÉRICA LATINA	258
VI. CONCLUSIÓN	258
VII. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	259
VIII. BIBLIOGRAFÍA CITADA	259
• CAPÍTULO 10	
FERMENTACIÓN DE JUGOS Y BEBIDAS A BASE DE FRUTAS	273
I. LAS FRUTAS COMO ALIMENTO Y SUS EFECTOS BENÉFICOS PARA LA SALUD	275
II. DESAFÍOS A SUPERAR PARA INCREMENTAR EL CONSUMO DE FRUTAS	278
III. FERMENTACIÓN LÁCTICA DE FRUTAS COMO ALTERNATIVA DE PRESERVACIÓN Y DE VALOR	
AGREGADO	279

IV. COMPUESTOS FENÓLICOS EN FRUTAS	281
IV.A. METABOLISMO DE LOS CF POR BAL	282
IV.B. METABOLISMO DE ÁCIDOS FENÓLICOS: UNA VENTAJA ENERGÉTICA	284
V. FORMACIÓN DE COMPUESTOS DE AROMA EN JUGOS DE FRUTAS FERMENTADAS	285
VI. BACTERIAS PROBIÓTICAS EN JUGOS DE FRUTA	287
VII. ALIMENTOS FERMENTADOS ARTESANALES Y COMERCIALES A BASE DE FRUTAS	290
VII.A. VINO: LA BEBIDA ALCOHÓLICA FERMENTADA A BASE DE JUGO DE UVA MUNDIALMENTE ACEPTADA	292
VII.A.1. PRODUCCIÓN DE VINO EN ARGENTINA	292
VII.A.2. COMPOSICIÓN DEL MOSTO DE UVA Y VINO	293
VII.A.3. TIPOS DE FERMENTACIONES QUE OCURREN DURANTE LA VINIFICACIÓN	294
VII.A.4. IMPORTANCIA DE LAS BAL EN LA PRODUCCIÓN DEL VINO	294
VII.A.5. ESTRATEGIAS DE INOCULACIÓN: FERMENTACIÓN SECUENCIAL VS. SIMULTÁNEA	295
VIII. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	295
IX. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	296
X. BIBLIOGRAFÍA	296
• CAPÍTULO 11	
LEVADURAS EN CERVEZA Y PANIFICADOS, APORTES DESDE LA PATAGONIA ARGENTINA	307
I. BREVE HISTORIA DE LA CERVEZA Y EL PAN	309
I.A. PRODUCCIÓN DE CERVEZA	309
I.B. PRODUCCIÓN DE PAN	312
II. LEVADURAS ASOCIADAS A PAN Y CERVEZA	313
II.A. LEVADURAS DE LA CERVEZA	313
II.A.1. LEVADURAS <i>ALE</i>	313
II.A.2 LEVADURAS <i>LAGER</i>	314
II.B. LEVADURAS DEL PAN	315

III. EL CASO DEL HÍBRIDO <i>LAGER</i> Y SUS ORÍGENES PATAGÓNICOS	316
IV. ALIMENTOS FERMENTADOS CON <i>S. EUBAYANUS</i> : EL DESAFÍO DE LA VINCULACIÓN PÚBLICO-PRIVADA	317
V. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	319
VI. BIBLIOGRAFÍA CITADA	320
• CAPÍTULO 12	
EL PAPEL DE LOS ALIMENTOS FERMENTADOS EN LA ALIMENTACIÓN	323
I. INTRODUCCIÓN	325
II. LA FERMENTACIÓN DE LOS ALIMENTOS: CULTURA, GASTRONOMÍA Y CIENCIA	326
III. BENEFICIOS NUTRICIONALES DE LOS ALIMENTOS FERMENTADOS	328
III.A. LECHE FERMENTADAS Y PRODUCTOS LÁCTEOS FERMENTADOS	330
III.B. CEREALES FERMENTADOS	331
III.C. LEGUMBRES FERMENTADAS	332
IV. ALIMENTOS FERMENTADOS MÁS ALLÁ DE SUS BENEFICIOS NUTRICIONALES	333
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	334
VI. AGRADECIMIENTOS	335
VII. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	335
VIII. BIBLIOGRAFÍA CITADA	335
• CAPÍTULO 13	
ROL DEL ÁCIDO LÁCTICO EN LOS EFECTOS BENÉFICOS DE LOS ALIMENTOS FERMENTADOS	341
I. INTRODUCCIÓN	343
II. ROL DEL LACTATO SOBRE CÉLULAS INMUNES	345
III. EFECTO DEL LACTATO SOBRE LA BIOLOGÍA EPITELIAL	347
IV. MECANISMOS DE ACCIÓN DEL LACTATO	349
IV.A. MODIFICACIÓN DEL METABOLISMO CELULAR	349

IV.B. EL LACTATO COMO MOLÉCULA DE SEÑALIZACIÓN: ROL DEL GPR81	351
IV.C. EL LACTATO COMO MODIFICADOR DE LA EXPRESIÓN GÉNICA Y SU PARTICIPACIÓN EN PROCESOS DE REPARACIÓN DEL ADN	352
V. CONCLUSIONES	354
VI. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	354
VII. BIBLIOGRAFIA	354
• CAPÍTULO 14	
SEGURIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS ALIMENTOS FERMENTADOS	359
I. INTRODUCCIÓN Y CONCEPTOS GENERALES	361
II. SEGURIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS ALIMENTOS FERMENTADOS	365
III. SUGERENCIAS PARA ELABORAR ALIMENTOS FERMENTADOS SEGUROS	367
III.A. UTILIZAR AGUA Y MATERIAS PRIMAS SEGURAS	367
III.B. MANTENER LA LIMPIEZA	368
III.B.1. LAVAR Y DESINFECTAR LAS MATERIAS PRIMAS QUE SE UTILIZARÁN	369
III.B.2. TRABAJAR SOBRE SUPERFICIES LIMPIAS	370
III.B.3. PROTEGER LOS ALIMENTOS Y LAS ÁREAS DE ELABORACIÓN DE LAS PLAGAS, MASCOTAS Y OTROS ANIMALES	370
III.C. SEPARAR ALIMENTOS CRUDOS Y COCIDOS	371
III.D. TRATAR TÉRMICAMENTE LOS ALIMENTOS QUE ASÍ LO REQUIERAN	371
III.E. MANTENER LOS ALIMENTOS A TEMPERATURAS SEGURAS	372
III.F. UTILIZAR MATERIALES DE GRADO ALIMENTICIO	372
III.G. UTILIZAR CULTIVOS INICIADORES ADECUADOS	373
III.H. ADICIONAR UNA CONCENTRACIÓN SALINA ADECUADA	374
III.I. CONTROLAR TIEMPOS, TEMPERATURAS Y CONDICIONES DE FERMENTACIÓN	374
III.J. ROTULAR LOS ALIMENTOS FERMENTADOS ELABORADOS	375
IV. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	377
V. BIBLIOGRAFÍA CITADA	377

• CAPÍTULO 15

ALIMENTOS FERMENTADOS Y ENFERMEDADES CRÓNICAS NO TRANSMISIBLES: UNA REVISIÓN NARRATIVA DE LA LITERATURA	381
I. INTRODUCCIÓN	383
II. ALIMENTOS FERMENTADOS EN EL MANEJO Y ENFERMEDADES INMUNOLÓGICAS	385
III. ALIMENTOS FERMENTADOS, SÍNDROME METABÓLICO Y DIABETES MELLITUS TIPO 2	385
IV. ALIMENTOS FERMENTADOS E HIPERTENSIÓN ARTERIAL	386
V. ALIMENTOS FERMENTADOS Y EXCESO DE PESO	387
VI. APROXIMACIÓN AL IMPACTO ECONÓMICO POTENCIAL DE LA PROMOCIÓN DEL CONSUMO DE CIERTOS ALIMENTOS FERMENTADOS SOBRE LOS SISTEMAS DE SALUD PÚBLICOS Y PRIVADOS	388
VII. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	389
VIII. BIBLIOGRAFÍA CITADA	389

• CAPÍTULO 16

LA FERMENTACIÓN Y LA GASTRONOMÍA UN COCINERO ENTRE LOS CIENTÍFICOS, UN CIENTÍFICO ENTRE LOS COCINEROS	395
I. MARTÍN RUSSO POR MARTÍN RUSSO	397
I.A. EL CAMINO A LA COCINA	397
I.B. ORDEN Y DISCIPLINA: MUGARITZ	399
I.C. LA PARTIDA DE FERMENTOS	401
II. LOS ALIMENTOS FERMENTADOS, AQUÍ Y AHORA	401
II.A. ¿QUÉ IMPLICA FERMENTAR ALIMENTOS?	401
II.B. ¿QUÉ ALIMENTOS FERMENTADOS SE CONSUMEN EN LA ARGENTINA, Y EN LA REGIÓN?	402
II.C. EN BUSCA DE LA VANGUARDIA DE LA FERMENTACIÓN	404
II.D. LA ESTANDARIZACIÓN COMO META	406
III. LAS FRONTERAS: INVESTIGACIÓN Y FUTURO DE LA FERMENTACIÓN GASTRONÓMICA	407
IV. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS	407
V. BIBLIOGRAFÍA CITADA	408

EL KEFIR Y LOS ALIMENTOS FERMENTADOS ARTESANALES

Ana Agustina Bengoa

bengoaagustina@gmail.com

- *Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). CONICET-UNLP –CICPBA*

Graciela Liliana Garrote

ggarrote@biol.unlp.edu.ar

- *Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). CONICET-UNLP –CICPBA*

Analía Graciela Abraham

aga@biol.unlp.edu.ar

- *Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). CONICET-UNLP –CICPBA - Facultad de Ciencias Exactas UNLP 47 y 116 1900, La Plata. Argentina.*
- *Área Bioquímica y Control de Alimentos-Facultad de Ciencias Exactas UNLP.*

RESUMEN

Los alimentos fermentados han tenido un papel importante en la dieta humana desde el desarrollo de la civilización y siguen siendo importantes en muchos países en donde son una parte integral de la cultura y tradiciones locales. Entre ellos se pueden mencionar aquellos productos que se han revalorizado en los últimos años y se elaboran de manera artesanal como el kefir (bebida láctea fermentada), el sugary kefir o kefir de agua (agua azucarada fermentada) o la kombucha (té azucarado fermentado) entre otros.

El kefir es una bebida fermentada viscosa, de sabor ácido y levemente efervescente que se produce artesanalmente a partir de la fermentación de la leche con gránulos de kefir, estructuras gelatinosas, irregulares, con forma de coliflor, de tamaño variable (0,3 a 3,5 cm de diámetro), de color blanco o ligeramente amarillento y consistencia elástica. Los gránulos están compuestos por una matriz de polisacárido (kefiran) y proteínas, en donde se encuentran inmersas bacterias ácido lácticas, levaduras y bacterias ácido acéticas formando una comunidad simbiótica donde los productos generados por algunos microorganismos durante la

fermentación pueden ser utilizados como fuente de energía o factores de crecimiento por otros microorganismos presentes en la matriz.

El kefir de agua, también conocido como "aquakefir" o "*sugary kefir*", es una bebida de sabor ácido y frutal, levemente efervescente y de bajo contenido alcohólico, que se obtiene por fermentación de agua azucarada adicionada de frutas deshidratadas como higos secos o pasas de uva con una comunidad microbiana multiespecie estable contenida en los gránulos de kefir de agua y se le suele adicionar algún cítrico como limón, para aportar sabor y aroma. Se han utilizado estos gránulos para fermentar jugos de frutas y vegetales, presentándose esta bebida como alternativa para incluir en dietas veganas. Se les asignó el nombre «gránulos de kefir azucarado» (*sugary kefir grain*) para diferenciarlos de los utilizados para fermentar la leche.

La kombucha es una bebida producida por la fermentación aeróbica de té negro azucarado con una combinación simbiótica de levaduras y bacterias inmovilizadas en una película de celulosa. Esta película permanece flotando en el té azucarado y durante la fermentación se genera una nueva película que sirve como iniciador de un nuevo proceso de fermentación. La película conteniendo los microorganismos inmovilizados se denomina SCOBY (*Symbiotic Colony Of Bacteria and Yeast*).

La microbiota del kefir, kefir de agua y kombucha se presenta como una potencial fuente de microorganismos probióticos. Hasta el momento no se ha podido dilucidar completamente las interacciones existentes entre los microorganismos debido a la complejidad y diversidad de cada comunidad. Comprender el papel beneficioso de los microorganismos y sus metabolitos en cada comunidad permitiría el diseño de nuevos productos comerciales "hechos a medida del consumidor" que contengan mezclas definidas de microorganismos con beneficios específicos para la salud.

I. INTRODUCCIÓN

Los alimentos fermentados han tenido un rol importante en la dieta humana desde el desarrollo de la civilización, y siguen siendo importantes en muchos países en donde son una parte integral de la cultura y tradiciones locales. Durante la fermentación, los microorganismos transforman los componentes del alimento original produciendo ácidos orgánicos (láctico y acético), dióxido de carbono y alcohol, exopolisacáridos y metabolitos antimicrobianos –como las bacteriocinas, entre otros– dependiendo del fermento utilizado [1].

Si bien el objetivo inicial del proceso de fermentación era prolongar la vida útil de algunos alimentos y bebidas mejorando su seguridad y propiedades organolépticas [2], actualmente los productos fermentados se han vuelto más populares debido a sus beneficios para la salud [3, 4]. Se sabe que algunos alimentos fermentados también promueven la salud humana no solo debido a las propiedades de los materiales alimenticios iniciales. Durante la fermentación, se mejora el valor nutricional de los productos, ya que se ve favorecida la digestibilidad de las proteínas por la proteólisis llevada a cabo por los microorganismos iniciadores o aumenta la producción o biodisponibilidad de vitaminas. Por otro lado, los alimentos fermentados que mantienen los microorganismos viables, si se consumen regularmente, pueden modular la microbiota intestinal [5]. En los últimos años se han publicado evidencias que sugieren que la ingesta de alimentos fermentados es un elemento clave que afecta la relación entre la dieta y la salud mediada por la modulación de la composición y funcionalidad de la microbiota intestinal [6]. Podemos decir entonces que los alimentos fermentados podrían conducir a estos resultados modificando los componentes de los alimentos, sintetizando metabolitos y proteínas, y/o proporcionando microorganismos vivos al tracto gastrointestinal, dado que el estado de salud no solo depende de la composición de la microbiota, sino también de su diversidad [7]. En ese sentido, los alimentos fermentados artesanales comenzarían a tener un rol importante en nuestra alimentación. Entre ellos, se pueden mencionar aquellos productos que se han revalorizado en los últimos años y se elaboran de manera artesanal como el kefir (bebida láctea fermentada), el *sugary kefir* o kefir de agua (agua azucarada fermentada) o la kombucha (té azucarado fermentado), entre otros.

En este capítulo discutiremos las características fisicoquímicas y microbiológicas del kefir tradicional, sus condiciones de elaboración y sus efectos promotores de la salud. Asimismo, se comparará con el kefir de agua y se discutirán los aspectos generales de la obtención de kombucha.

II. EL KEFIR

El kefir es una bebida fermentada viscosa, de sabor ácido y levemente efervescente, que se produce artesanalmente a partir de la fermentación de la leche con

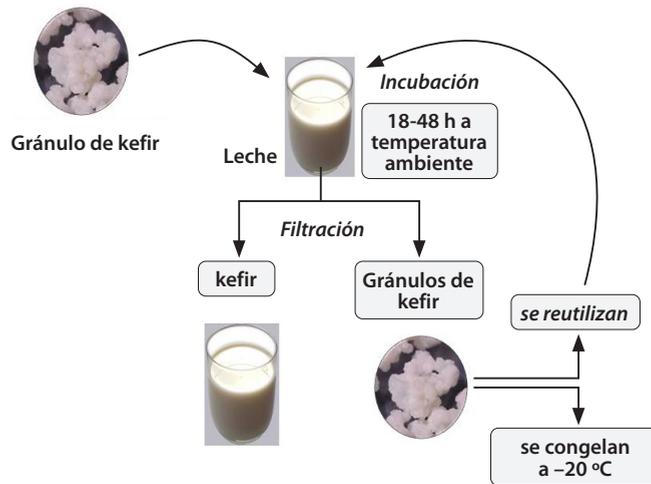
gránulos de kefir [8]. Históricamente, el kefir ha sido asociado con un estado saludable de quienes lo consumen [9, 10]. De hecho, el nombre kefir deriva de la palabra eslava "keif" que significa "bienestar" o "vivir bien". Es originario de las montañas del Cáucaso, y los gránulos han sido transmitidos de generación en generación desde hace más de 4.000 años [11, 12]. Se cree que los primeros gránulos de kefir se originaron como consecuencia del almacenamiento de la leche en bolsas hechas de piel o estómago de animales. Sea cual sea el origen, lo más probable es que se hayan originado en distintos lugares a lo largo de la historia y se hayan diseminado de forma tal que hoy en día se encuentran distribuidos en todo el mundo [13].

Los gránulos de kefir son masas gelatinosas, irregulares, con forma de coliflor, de tamaño variable (0,3 a 3,5 cm de diámetro), de color blanco o ligeramente amarillento y consistencia elástica. Contienen aproximadamente un 83% (p/p) de agua, 4-5% (p/p) proteínas y un 10% (p/p) de polisacáridos [14]. Están formados por una matriz de polisacárido (denominado "kefiran") y proteínas, en donde se encuentran inmersas bacterias ácido lácticas (10^8 - 10^9 UFC/g de gránulo), levaduras (10^7 - 10^8 UFC/g de gránulo) y bacterias ácido-acéticas (10^5 - 10^6 UFC/g de gránulo), formando una comunidad simbiótica donde los productos generados por algunos microorganismos durante la fermentación pueden ser utilizados como fuente de energía o factores de crecimiento por otros microorganismos presentes en la matriz [1, 13, 15, 16]. Los gránulos de distintas procedencias presentan distinta estructura y composición microbiana, lo que se debe no solo al origen diferente sino también al empleo de distintas técnicas y condiciones durante el proceso de elaboración de la bebida fermentada [17-20].

El kefir se diferencia de otras leches fermentadas por las características particulares del *starter*, o "cultivo iniciador", utilizado para su producción. Tanto el yogur, viili (leche fermentada nórdica) y otras leches fermentadas tradicionales, se obtienen por inoculación de la leche fresca con una muestra de leche fermentada previamente para obtener una mayor cantidad de producto. Por el contrario, la producción artesanal de kefir requiere directamente la inoculación de la leche fresca con los gránulos de kefir [11, 12]. Esto se debe a que la interacción simbiótica entre los microorganismos del gránulo de kefir es fundamental para dar lugar a una leche fermentada que tiene una diversidad microbiana diferente [21-24]. De esa manera, el uso del mismo kefir como inóculo en lugar de gránulos de kefir dará lugar a un producto con propiedades completamente diferentes. Una vez inoculados los gránulos en la leche y dadas las condiciones de temperatura adecuadas, las bacterias y levaduras presentes en el gránulo comienzan el proceso de fermentación durante el cual algunos de los microorganismos pasan a la leche, dando lugar a un incremento en el número de microorganismos viables en la leche, acompañado de la producción de diferentes metabolitos bioactivos tales como ácido láctico, péptidos bioactivos, exopolisacáridos y bacteriocinas. Al finalizar la fermentación, los gránulos son removidos o separados por filtración de manera tal que pueden ser inmediatamente utilizados para una nueva fermentación o almacenados en condiciones adecuadas [14, 25]. Con cada

fermentación, los gránulos incrementan su tamaño y pueden dar lugar a nuevos gránulos con las mismas características que los originales [15]. Este incremento de su biomasa, que puede llegar a ser de hasta un 2% en cada repique o subcultivo, es consecuencia del aumento en el número de microorganismos y de la producción de kefiran y proteínas que componen la matriz donde se encuentran asociados los microorganismos. Cuando no son utilizados para la elaboración de kefir, los gránulos deben ser conservados de manera adecuada, ya que su actividad depende de la viabilidad de los microorganismos (Figura 1).

Figura 1. Elaboración artesanal de kefir y conservación de gránulos.



Si bien pueden guardarse en heladera a 4°C en leche fresca, en estas condiciones los gránulos se mantendrán activos solo durante un periodo de 8 a 10 días. Se ha evidenciado que los gránulos liofilizados o secados pueden mantener su actividad durante 12 a 18 meses; sin embargo, una mejor preservación se logra al almacenarlos congelados a -20°C en leche fresca [26]. Para reactivarlos, el proceso consiste simplemente en inocular los gránulos en leche y dejarlos fermentar. Los sucesivos repiques en leche permitirán el restablecimiento de la estructura y actividad de los gránulos hasta lograr un kefir con las características deseadas [27]. Por otro lado, el kefir obtenido puede ser consumido inmediatamente o refrigerado a 4°C para su posterior consumo. Esta etapa de refrigeración favorece la fermentación alcohólica con acumulación de CO₂, etanol y vitamina B y, además, conduce a una reducción aun mayor del contenido de lactosa, haciendo el producto más apropiado para personas con intolerancia a este hidrato de carbono [25].

A la hora de preparar el kefir es fundamental tener en cuenta una serie de variables o puntos críticos que pueden modificar las características químicas, microbiológicas, organolépticas, nutricionales y funcionales del producto final [14], entre las cuales se pueden mencionar las siguientes.

- Origen de los gránulos: la composición microbiana de los gránulos puede variar dependiendo de su origen geográfico [15, 27]. Está demostrado, por ejemplo, que la composición de los gránulos tibetanos difiere de los gránulos de origen ruso, irlandés, taiwanés y turco [20, 28]: siendo estas diferencias en la comunidad microbiana de los gránulos la responsable de las propiedades fisicoquímicas y organolépticas de cada kefir en particular [29].
- Tipo de leche: si bien la leche de vaca es la más comúnmente utilizada para la elaboración del kefir, también puede utilizarse leche de cabra o de oveja [11] y esta puede ser entera o descremada. Debe tenerse en cuenta que cuanto mayor sea la cantidad de grasa de la leche, más cremoso y espeso será el producto [30]. Sin embargo, se ha evidenciado que el uso de leche descremada resulta en un mayor incremento de biomasa de los gránulos, ya que la mayor cantidad de grasa podría estar inhibiendo o reduciendo el intercambio de nutrientes entre los microorganismos [14]. El kefir también ha sido preparado usando bebida a base de soja, de nuez y de coco, entre otras; sin embargo, el uso de este tipo de sustratos no lácteos requiere la adición de glucosa, lactosa o sacarosa al 1% para estimular el desarrollo de bacterias lácticas y levaduras, y la consecuente producción de ácido láctico y etanol. Además, si bien se logra obtener un producto fermentado, el uso de estas bebidas vegetales debilita notoriamente al gránulo, por lo que luego de algunos ciclos de fermentación deben volver a colocarse en leche para recuperarlos, indicando que estas bebidas no lácteas no serían apropiadas para obtención de gránulo de kefir [13].
- Relación gránulo/leche: los gránulos se inoculan normalmente al 1-10% (p/v) dependiendo de las características deseadas. En general, una relación del 1% (p/v) dará lugar a una leche fermentada más viscosa y menos ácida, mientras que una relación del 10% (p/v) dará por el contrario un producto ácido poco viscoso y más efervescente [31].
- Temperatura y tiempo de fermentación: habitualmente el kefir se prepara a temperatura ambiente, de manera tal que la fermentación se lleve a cabo entre 18 y 30°C durante 18 a 72 hs. De todas maneras, se considera que la temperatura óptima de elaboración del kefir es 25°C y si bien la fermentación puede ocurrir a temperaturas más elevadas, esto podría aumentar la acidez del producto, así como también afectar la producción de exopolisacárido [14].

El kefir se encuentra descrito en el Código Alimentario Argentino, en el apartado de Leches Fermentadas, Artículo 576 (Resolución Conjunta SPRyRS y SAGPyA N° 33/2006 y N° 563/2006). En Sudamérica, el consumo de kefir está limitado a la

producción artesanal. Sin embargo, en otros lugares del mundo, en particular países europeos como Alemania, Austria, Francia, Noruega, Suiza, Polonia y República Checa, el kefir es producido y comercializado a gran escala. El método de producción utilizado a nivel industrial difiere del método tradicional. El uso de gránulos para la fermentación de grandes volúmenes de leche y la recuperación de los mismos resulta muy laborioso y poco práctico para ser aplicado a un proceso industrial [32]. Además, es fundamental que cualquier producto de kefir preparado para ser distribuido y comercializado tenga una composición constante y definida, hecho difícil de lograr a partir los gránulos, que presentan una microbiota diversa y cambiante si se modifican las condiciones de elaboración [13]. Por estos motivos, la producción industrial del kefir se lleva a cabo mediante métodos alternativos. Uno de ellos consiste en el uso de cultivos puros seleccionados, congelados o liofilizados, como *starters* [22, 23], eliminando de esa forma el paso de recuperación de gránulos. El otro método, conocido como método ruso, consiste en una primera etapa de obtención de kefir mediante el uso tradicional con gránulos, seguido de una segunda etapa donde el kefir obtenido es inoculado en un mayor volumen de leche para obtener el producto fermentado a gran escala [33]. Sin embargo, este cultivo madre se debe elaborar en condiciones controladas, ya que el uso sucesivo del producto fermentado para elaborar nuevo kefir produce un desbalance de las poblaciones microbianas [34].

La compleja microbiota del kefir constituye un reservorio natural de cepas seguras y potencialmente probióticas para la salud [14]. Es importante destacar que la composición microbiana del gránulo de kefir difiere de la encontrada en la leche fermentada [20, 25, 35-37]. El género *Lactobacillus* es el más abundante en gránulos de distintos orígenes [20, 38-40], siendo *L. kefiranofaciens*, *L. kefir* y *L. parakefiri* las especies más representativas. Otras especies de lactobacilos encontradas en los gránulos incluyen *L. paracasei subsp. paracasei*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* y *L. plantarum* [41]. Por otro lado, en la leche fermentada se observa una predominancia de la familia Streptococcaceae y los géneros *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Lactobacillus* y *Acetobacter* [20, 39]. Se ha evidenciado además que la diversidad de especies bacterianas presente en la leche fermentada es menor a la encontrada en el gránulo correspondiente [20]. Por otro lado, debe tenerse en cuenta que las especies que predominan en el kefir pueden verse modificadas por el tiempo de fermentación. En las primeras horas de fermentación predomina *L. kefiranofaciens*, mientras que en etapas tardías se observa una prevalencia del género *Leuconostoc* [42]. En cuanto a las levaduras, más de 23 especies han sido identificadas formando parte de la microbiota del gránulo o de la leche fermentada; siendo *Saccharomyces cerevisiae*, *S. unisporus*, *Candida kefir* y *Kluyveromyces marxianus* las especies predominantes [23, 43, 44]. Otras especies encontradas incluyen *Torulaspora delbrueckii*, *Pichia fermentans*, *Kazachastania aerobia*, *Lachancea meyersii*, *Yarrowia lipolytica* y *Kazachstania unispora* [25].

III. EFECTOS BENEFICIOSOS SOBRE LA SALUD ATRIBUIDOS AL KEFIR

Se conoce que el kefir ejerce efectos beneficiosos para la salud de quien lo consume, tales como actividad antimicrobiana y antitumoral, inmunomoduladora, antiinflamatoria, cicatrizante, antioxidante, reductora del colesterol y mejora en la tolerancia a la lactosa, el hígado graso y modulación de la microbiota intestinal. Los hallazgos científicos más relevantes sobre las propiedades benéficas para la salud asociadas al consumo de kefir pueden encontrarse en los trabajos de diversos autores, quienes los han resumido adecuadamente [28, 45-47]. Debe tenerse en cuenta que estas propiedades podrían atribuirse tanto a los microorganismos presentes en el producto como a los metabolitos que ellos producen, y están presentes en la leche fermentada.

Dentro de las propiedades probióticas atribuidas a los lactobacilos aislados de kefir, se puede mencionar la capacidad de *L. plantarum* CIDCA 83114 de antagonizar el efecto biológico de *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) *in vitro* [48] y los efectos citotóxicos de la toxina Shiga tipo II producida por EHEC O157: H7 [49]. Asimismo, se ha descrito su efecto protector sobre la invasión de *Shigella flexneri* a células epiteliales [50]. Por su parte, cepas de *L. kefiri* pueden inhibir la adhesión y la invasión de *Salmonella enterica* serovar. *Typhimurium* a células Caco-2/TC-7 [51].

En relación con las levaduras, cepas pertenecientes a especies *S. cerevisiae*, *S. unisporus*, *I. occidentalis* y *K. marxianus* resisten a las condiciones gastrointestinales y adhieren a células Caco-2 [43]. Romanin y colaboradores [52] demostraron que levaduras específicas presentes en el kefir son capaces de modular la respuesta inducida por distintos agonistas proinflamatorios como flagelina, IL-1 β , TNF- α y LPS. Además, se demostró [53] que el pretratamiento de células epiteliales con *K. marxianus* CIDCA 8154, reduce los niveles intracelulares de especies reactivas de oxígeno y –en un modelo de *Caenorhabditis elegans*– se comprobó que la levadura protege del estrés oxidativo. En el mismo sentido, Cho y colaboradores [54] describieron recientemente que una combinación de *Kluyveromyces* KU140723-02 aislada de kefir y harina de semilla de uva rica en polifenoles o su extracto tiene actividad antioxidante incrementada. Otros investigadores [55] señalaron que cepas de *S. cerevisiae* aisladas de kefir brasileño presentaron interesantes propiedades probióticas *in vitro*. En un ensayo *in vivo* de colitis inducida químicamente con ácido trinitrobenzeno sulfónico (TNBS) se demostró que ratones tratados por vía oral con *K. marxianus* CIDCA 8154 presentaron menor daño histopatológico y niveles más bajos de IL-6 circulante [53]. También se ha descrito que la combinación de dos lactobacilos, un lactococo y dos levaduras aislados de kefir protegen células epiteliales cultivadas *in vitro* de la invasión de *Shigella* [50], así como también, protegen contra la infección por *Clostridium difficile* en un modelo de ratón [56]. Del mismo modo, Londero y colaboradores [57] mostraron las propiedades antagonicas de un cultivo mixto de cepas de kefir contra *Salmonella*. Como estos efectos, muchos otros han sido colectados de la bibliografía científica y publicados por Slattery y colaboradores [58].

Los microorganismos que constituyen los gránulos de kefir producen cambios en la leche durante la fermentación, modificando sus características organolépticas y produciendo metabolitos que contribuyen a las propiedades promotoras de la salud atribuidas al producto. Los microorganismos fermentan la lactosa, hidrolizan proteínas, producen exopolisacáridos (EPS) y ácidos orgánicos, vitaminas, etanol, acetaldehído, diacetilo, dióxido de carbono y bacteriocinas y todos ellos forman parte de la fracción no microbiana del kefir.

Una actividad asociada a esta fracción es la capacidad antimicrobiana atribuida principalmente a los ácidos orgánicos a veces acompañados de otros compuestos inhibidores como las bacteriocinas [45, 59, 60, 61]. El nivel de ácido láctico en el kefir varía entre 0,078 M y 0,255 M [15, 33, 62] y la concentración de ácido acético se encuentra entre 0,015 M y 0,038 M dependiendo de los microorganismos y de las condiciones de fermentación [63].

Se ha demostrado la actividad inhibitoria de la fracción no microbiana, así como del sobrenadante libre de células de leches fermentadas con microorganismos aislados de kefir contra varias bacterias patógenas [59, 60, 64]. Iraporda y colaboradores [60] mostraron que el efecto inhibitorio sobre *Salmonella enterica* serovar. *Enteritidis* es debido a la forma no disociada de los ácidos orgánicos, ya que su efecto se pierde al neutralizar la fracción no microbiana de la leche fermentada. Sin embargo, los mismos autores observaron una disminución en la capacidad invasiva del patógeno a células epiteliales intestinales en cultivo al incubarse con la fracción no microbiana de kefir neutralizada.

Otro beneficio para la salud atribuido a la fracción no microbiana del kefir es su capacidad para modular la respuesta inmune [60]. En este contexto, de Moreno de Le Blanc y colaboradores [65] demostraron que la fracción no microbiana del kefir retrasa el desarrollo del tumor de mama en un modelo animal. El lactato y otros ácidos orgánicos como el acetato, el propionato y el butirato, también regulan negativamente las respuestas proinflamatorias en las células epiteliales y mieloides intestinales [60, 66]. La administración intrarrectal de lactato proporciona una reducción significativa de la inflamación intestinal y el daño epitelial inducido por TNBS. Sin embargo, cuando se administra en el agua de bebida no protege contra la inflamación intestinal aguda, probablemente debido a que el lactato no alcanza los niveles necesarios en el colon porque es absorbido y/o consumido por las bacterias que allí se encuentran [67]. Sin embargo, el lactato puede llegar al intestino a través del consumo de probióticos y alimentos que contienen prebióticos. Los microorganismos probióticos que se adhieren a las células epiteliales pueden producir lactato en el microambiente del epitelio intestinal. En este aspecto, es importante señalar que algunas cepas de *L. paracasei* aisladas de kefir aumentan su capacidad de adhesión a células Caco-2 y a mucina después del paso a través del tracto gastrointestinal simulado [68]. Del mismo modo, el consumo de prebióticos que se fermentan selectivamente en el colon induce el crecimiento de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* que producen principalmente lactato. Además, la microbiota intestinal puede usar lactato para la producción de

acetato, propionato y butirato, siendo estos, ácidos grasos de cadena corta altamente asociados a la salud intestinal.

La modulación de la microbiota intestinal mediante la administración de kefir se ha demostrado en ensayos con animales [69, 70] y recientemente en un ensayo en humanos [71]. Este impacto en las comunidades microbianas podría modificar el perfil de metabolitos y también influir en la respuesta inmune.

El kefiran es un heteropolisacárido soluble en agua compuesto por cantidades iguales de D-glucosa y D-galactosa, y es el principal polisacárido presente en el kefir, alcanzando valores de aproximadamente 218 mg/L [72, 73] y ha sido estudiado por sus propiedades tecnológicas y beneficios para la salud. Este polímero es un aditivo interesante para la industria alimentaria, ya que mejora significativamente la viscosidad y las propiedades viscoelásticas de los geles de leche ácidos y es capaz de formar films comestibles [74, 75]. Es un polisacárido no digerible que puede llegar al intestino grueso donde puede ejercer efecto antimicrobiano [76], antiinflamatorio [77] y antialérgico [78]. La administración de kefiran en el agua de bebida aumenta la cantidad de bifidobacterias en el colon [79] y la cantidad de células intestinales productoras de mucus [80]. La actividad benéfica del kefiran podría atribuirse a la capacidad de este polisacárido para interactuar con los enterocitos o indirectamente por el efecto bifidogénico demostrado. Además, este polímero puede antagonizar los factores de virulencia de patógenos *in vitro* [81] y reducir la presión arterial y los niveles de colesterol en suero [82].

Hamet y colaboradores [83] han aislado nueve cepas de *L. kefiranofaciens* subsp. *kefiranofaciens* productoras de EPS de gránulos de kefir de diferentes orígenes observando que el grado de polimerización del EPS producido en la leche depende de la cepa. Sin embargo, ninguno de ellos produce fracciones de un peso molecular superior a 10^5 Da. Jeong y colaboradores [84] demostraron que *L. kefiranofaciens* DN1 produce un EPS diferente del kefiran, compuesto de manosa, arabinosa, glucosa, galactosa y ramnosa, cuando crece en glucosa. Por el contrario, el *L. kefiranofaciens* 1P3 aislado de granos de kefir de Brasil pudo producir un α -glucano en presencia de sacarosa, sin embargo, no informaron si las mismas cepas pueden producir EPS a partir de lactosa [85].

Además de *L. kefiranofaciens*, muchas otras especies BAL productoras de EPS se han aislado del grano de kefir [84, 86]. Gangoitti y colaboradores [87] estudiaron la estructura del EPS sintetizado por *L. plantarum* CIDCA 8327 en la leche, observando que correspondía a un α -glucano. Las cepas de *L. paracasei* subsp. *paracasei* aisladas de gránulos de kefir en Argentina pudieron producir EPS en leche o medios de cultivo [86, 88]. La temperatura de crecimiento afectó la producción de EPS por *L. paracasei* subsp. *paracasei*, evidenciándose los cambios por la presencia de una fracción de alto peso molecular y un aumento en la cantidad total de EPS producido a una temperatura más baja [88]. La leche fermentada obtenida con estas cepas tiene buenas propiedades reológicas [86] y se les atribuye la inhibición de la invasión de *Salmonella* y la modulación de la respuesta proinflamatoria en un modelo animal [88, 89]. Di y colaboradores [90] estudiaron el EPS producido por *L. plantarum* YW11 aislado del

kefir tibetano, evidenciando su actividad antioxidante. Además, demostraron que el consumo de EPS recupera la diversidad de microbiota y los filotipos en un modelo de ratón envejecido.

Dallas y colaboradores [91] describieron la presencia de péptidos en muestras de kefir con actividad biológica, incluidas las funciones antihipertensivas, antimicrobianas, inmunomoduladoras, opioides y antioxidantes. Informes recientes demostraron que la administración de kefir o péptidos comerciales a partir de kefir redujo el aumento de peso en ratones obesos [46, 92]. Santanna y colaboradores [93] mostraron que la administración de la fracción no microbiana causó una reducción significativa en el depósito de lípidos vasculares. Del mismo modo, Brasil y colaboradores [94] evidenciaron que la fracción no microbiana del kefir inhibe la enzima convertidora de angiotensina y reduce la hipertensión, atribuyendo este efecto a la liberación de péptidos bioactivos de las proteínas de la leche por los microorganismos.

El kefir se ha asociado con el estado saludable y la longevidad de los consumidores durante años. Sin embargo, las bases científicas de las propiedades promotoras de la salud del kefir se demostraron en las últimas tres décadas. La leche fermentada es un producto dinámico cuyas propiedades dependen de varios factores, como la fuente de leche, las condiciones de crecimiento y el origen de los gránulos. Dado que las principales variaciones incluyen la microflora y los metabolitos del kefir como ácido láctico y acético, exopolisacárido y péptidos bioactivos, es necesaria una comprensión profunda de la composición microbiológica y química del kefir para entender la compleja interrelación entre sus microorganismos que han permitido el mantenimiento del complejo sistema ecológico a través de los siglos. Además, comprender el papel beneficioso de cada microorganismo aislado de kefir y los componentes de la fracción no microbiana permitiría el diseño de nuevos productos comerciales que contengan mezclas definidas de microorganismos y metabolitos con beneficios específicos para la salud. El desarrollo de kefir comercial con cepas definidas, permite obtener productos controlados y reproducibles y, junto a los estudios clínicos de efectividad que demuestren sus propiedades benéficas, daría lugar a clasificar a este tipo de kefir como un alimento probiótico, según los requerimientos regulatorios actuales, lo que constituye un amplio e innovador campo a desarrollar dentro de la ciencia y tecnología de alimentos.

IV. KEFIR DE AGUA

En los últimos años ha aumentado el interés por esta bebida fermentada debido a su sabor agradable y los potenciales efectos benéficos atribuidos a su consumo. Ha surgido la inquietud por conocer el proceso de obtención de esta bebida y los microorganismos responsables de la fermentación, así como de dilucidar las características fisicoquímicas, nutricionales y benéficas para la salud (funcionalidad) del producto. A diferencia de lo que ocurre en algunos países de Europa, Asia o América del

Norte –en los cuales esta bebida se produce de manera industrial y se comercializa [95]–, en nuestro país solo se fabrica de manera artesanal y hasta el momento no está regulada por el Código Alimentario Argentino.

El kefir de agua, también conocido como “aquakefir” o “sugary kefir”, es una bebida de sabor ácido y frutal, levemente efervescente y de bajo contenido alcohólico, que se obtiene por fermentación de agua azucarada adicionada de frutas deshidratadas, como higos secos o pasas de uva, con una comunidad microbiana multiespecie estable contenida en los gránulos de kefir de agua [96, 97] y se le suele adicionar algún cítrico como limón, para aportar sabor y aroma [98, 99]. Se han utilizado estos gránulos para fermentar jugos de frutas y vegetales, presentándose esta bebida como alternativa para incluir en dietas veganas [95].

Se les asignó el nombre “gránulos de kefir azucarado” (en inglés, “*sugary kefir grain*”) para diferenciarlos de los utilizados para fermentar la leche [98, 100]. Si bien comparten con el kefir tradicional de leche el hecho de ser un sistema microbiológico complejo inmovilizado en una matriz, difieren en la composición química de la matriz y los principales microorganismos que lo conforman.

Los gránulos de kefir de agua son pequeños (1 a 10 milímetros de diámetro), translúcidos y quebradizos (se rompen bajo presión); pueden ser de color blanco o amarillento según la fruta que se añade en el medio de cultivo [98] o el tipo de azúcar usado. Al igual que el kefir de leche, constituyen un sistema microbiológico complejo conformado por bacterias ácido lácticas (10^7 - 10^8 UFC/g de gránulo), bacterias ácido acéticas (10^6 - 10^7 UFC/g de gránulo) y levaduras (10^6 - 10^7 UFC/g de gránulo) que coexisten en asociación simbiótica, inmersas e inmovilizadas en una matriz de polisacárido producido por las propias bacterias [101-103]. La matriz está compuesta por un polisacárido formado por glucosa unida por enlaces α -1,6 con ramificaciones en uniones α -1,3, hecho que lo diferencia de la matriz del gránulo de kefir de leche compuesta por proteínas y kefiran [100, 104, 105].

Estos gránulos de kefir de agua también han recibido diferentes nombres como “tibicos” o “tibi”, entre otros, dependiendo del posible origen del gránulo que es aún incierto [106]. Entre las teorías más populares del origen de los gránulos se pueden mencionar que fueron traídos a Europa por los soldados que regresaron de la guerra de Crimea en 1855 y los llamaron “*gingerbeer plants*” [107], mientras que otra teoría propone la formación espontánea de los “tibis” en las hojas planas (nopales) de un cactus mexicano (*Opuntia* spp.), donde los microorganismos se alimentaban de las excreciones azucaradas [108]. Pero más allá de su origen, lo cierto es que los gránulos se han transmitido de casa en casa a través de las generaciones, para la elaboración artesanal de esta bebida fermentada.

El proceso de fermentación de kefir de agua se inicia agregando gránulos de kefir de agua (el inóculo) a una mezcla de agua potable, frutas (secas) y azúcar. Por lo general, se realiza a temperatura ambiente (21 a 25 °C) durante 2 a 4 días usando entre 6 y 30% (p/v) de sacarosa y 6–20% (p/v) de gránulos de kefir de agua [96, 99, 103, 109, 110]. Durante este proceso algunos microorganismos pasan al agua, donde se

multiplican y fermentan los azúcares –evidenciándose un descenso del pH– y otros quedan asociados al gránulo y sintetizan el glucano a partir de sacarosa, componente principal de la matriz [104, 105, 110]. Al final de este proceso los gránulos de kefir que han aumentado su masa son recuperados por filtración [102] y el producto resultante es una bebida dulce, ligeramente alcohólica, ácida y espumosa, de color amarillento y de sabor y aroma frutado, que muchos llaman “licor de kefir” y que contiene las bacterias y levaduras viables. Se puede tomar inmediatamente o conservar en la heladera 1 o 2 días, aunque el gas también aumentará, produciendo una bebida más carbonatada. El proceso de fermentación puede ser doble si, luego de las primeras 24 horas, se retiran los gránulos por filtración y se añaden al primer producto obtenido frutas, jugos de frutas y se deja fermentar por 24 horas más en la heladera. Esto da la posibilidad de obtener productos saborizados (suelen añadirse jugos de frutas como manzana, piña, lima, limón, naranja, mango, cerezas, frutillas, etc). También puede realizarse la fermentación sustituyendo el agua azucarada por agua de coco, suficientemente dulce [95]. De esta manera en cada fermentación se obtiene el producto fermentado y un aumento de la cantidad de gránulos que son utilizados nuevamente (proceso denominado *backslopping* en inglés) o son almacenados en heladera para futuras fermentaciones [99, 103].

En algunos países este producto se elabora a escala industrial donde se requieren condiciones controladas de fermentación y tratamiento de las materias primas [95].

La bebida fermentada contiene ácidos láctico y acético, CO₂, alcohol y varios compuestos que contribuyen al aroma y vitaminas del grupo B [95]. También se encuentran presentes polisacáridos que fueron caracterizados como glucanos (polímero de glucosa) y en menor proporción levanos (polímeros de fructosa) producidos por los propios microorganismos [97, 101, 105]. El glucano presente en el producto fermentado difiere del presente en el gránulo en el peso molecular y la posición de las ramificaciones. La composición del kefir de agua, así como sus características organolépticas, pueden ser diferentes debido a factores tales como el origen y almacenamiento de los gránulos, el tipo de azúcar, así como a las condiciones de elaboración del producto siendo relevantes la temperatura, la concentración de gránulos, la capacidad buffer del medio, la concentración de calcio y la temperatura de fermentación [106, 111].

El aumento de biomasa de gránulo es un proceso clave para la continuación y propagación de los gránulos y está influenciado principalmente por las características intrínsecas del gránulo y factores ambientales como los nutrientes disponibles [103, 110]. El bajo crecimiento de gránulo es un problema común durante la fermentación de kefir de agua que limita la continuación exitosa del proceso de producción de esta bebida [103].

Los microorganismos del gránulo de kefir de agua han sido mucho menos estudiados que los del kefir de leche, aunque igualmente constituyen un reservorio importante de microorganismos altamente competitivos. Una particularidad del gránulo de kefir de agua es su capacidad de mantener el balance microbiano durante largos períodos, adaptándose al desarrollo en un hábitat pobre en fuentes de

nitrógeno y factores de crecimiento [96, 112, 113]. En ese aspecto, los microorganismos del gránulo coexisten en una estrecha relación donde cada uno es capaz de crecer en asociación simbiótica y proveerse uno a otros componentes esenciales para su desarrollo. Se ha evidenciado una estrecha relación entre bacterias y levaduras aisladas de kefir de agua. Al crecer en co-cultivo algunas combinaciones resultaron en un beneficio para para ambos microorganismos. Por ejemplo, en el co-cultivo de *Zygorhynchus florentina* (*Z. florentina*) y *Lactobacillus nagelii* las levaduras proveyeron vitaminas, aminoácidos esenciales y factores de crecimiento para las bacterias mientras que los productos finales de las bacterias fueron utilizados por las levaduras como fuentes de energía [97]. Por otro lado, la combinación de *L. hilgardii* y *Z. florentina* resulta en el beneficio de una sola de las especies (parasitismo) [112, 113]. De esta manera se puede considerar que en el gránulo se genera una relación única entre los integrantes del consorcio dependiendo de cada bacteria/levadura. Los microorganismos del gránulo además producen metabolitos que controlan el desarrollo de microorganismos ambientales o patógenos, permitiendo que la fermentación se realice bajo condiciones no estériles sin riesgo de contaminación.

Algunos de los microorganismos clave de la fermentación de kefir de agua son *L. hilgardii*, *L. nagelii*, *L. paracasei*, *Bifidobacterium aquikefiri*, *Saccharomyces cerevisiae*, y *Dekkera bruxellensis* [97, 99, 111, 114]. También están presentes otras bacterias lácticas, levaduras, bacterias ácido acéticas y/o bifidobacterias [96, 109, 110, 114]. Se puede apreciar que, si bien hay coincidencia en algunas especies, los microorganismos más relevantes en este sistema no son los mismos que los descritos en el kefir de leche. Dentro de la variedad de especies que conviven en los gránulos de kefir de agua, se ha considerado que *L. hilgardii* es el principal microorganismo responsable de la producción del glucano constituyente de la matriz del gránulo [101, 105] y recientemente se ha postulado a *L. hordei* como un posible contribuyente a la formación de gránulo [115].

En el saber popular, el consumo de esta bebida se asocia a una mejora en el estado de salud y se supone que muchos de estos efectos provienen del hecho de relacionar este producto con el kefir de leche. En la Figura 2 se detallan las principales diferencias entre los gránulos de kefir de leche y de agua. Con respecto al efecto benéfico de esta bebida, se ha demostrado que posee capacidad antioxidante *in vitro* y efecto antiinflamatorio en un modelo de edema en pata de rata, asociado a la presencia del polisacárido [116-118]. Algunos autores indican que dada la complejidad de la microbiota presente, sería factible que existan cepas potencialmente probióticas [96], sin embargo, es necesario validar los resultados. Por ejemplo, estudios *in vitro* sobre la capacidad de cepas de *L. paracasei*, aisladas de kefir de leche y de kefir de agua, de proteger el epitelio de la acción de *Salmonella*, demostraron que solo los aislados de leche dieron resultados positivos [89] indicando que el efecto es dependiente de la cepa. Trabajos recientes han demostrado que *L. diolivorans* 1Z, protege *in vivo* de la infección con *Salmonella* [119] y *L. mali* APS1 mejora la esteatosis hepática en modelo animal [120]. Sin embargo, las investigaciones y publicaciones científicas relacionadas con este tema son todavía escasas quedando un largo camino por recorrer.

Figura 2. Gránulo de kefir de leche y gránulos de kefir de agua.

V. KOMBUCHA

La kombucha es una bebida producida por la fermentación aeróbica de té negro azucarado con una combinación simbiótica de levaduras y bacterias inmovilizadas en una película de celulosa. Esta película permanece flotando en el té azucarado y durante la fermentación se genera una nueva película que sirve como iniciador de un nuevo proceso de fermentación. La película conteniendo los microorganismos inmovilizados se denomina SCOBY (siglas en inglés para *Symbiotic Colony Of Bacteria and Yeast*). La kombucha es también conocida como los "hongos del té" o *Haipao*, y se ha elaborado en China de manera artesanal durante más de 2000 años; de allí fue a Japón, para llegar finalmente a Rusia y el Este Europeo [121].

La kombucha obtenida por fermentación aeróbica de té negro azucarado durante 8 a 10 días tiene un sabor ácido semejante a una sidra burbujeante que por fermentación prolongada desarrolla un sabor a vinagre suave [122]. La bebida fermentada contiene microorganismos viables, etanol, dióxido de carbono y ácidos orgánicos (principalmente ácido glucónico y acético, y en menor proporción ácido láctico), entre otros metabolitos responsables de las características organolépticas [123].

En el producto, obtenido durante 10 días, las bacterias y levaduras alcanzan una concentración entre 10^4 y 10^6 UFC/ml, siendo el número de levaduras levemente superior al de bacterias. Se ha demostrado que la viabilidad de los microorganismos disminuye en el transcurso de la fermentación debido a la falta de oxígeno y el pH extremadamente bajo (pH 2,5) [124]. El número de microorganismos viables es inferior en la película con respecto a la bebida fermentada, siendo el microbioma de la película más estable y menos diverso que la bebida [124, 125].

Los microorganismos que se han aislado con mayor frecuencia de este producto son bacterias ácido acéticas correspondientes a los géneros *Gluconacetobacter* y *Acetobacter*, que están acompañados por levaduras representadas en su mayor proporción por el género *Zygosaccharomyces*. En menor proporción se encuentran las bacterias lácticas representadas por el género *Lactobacillus*. La composición microbiológica varía dependiendo del origen del SCOBY, pero los microorganismos predominantes son los mismos en todos los productos y películas [122, 123]. Se ha demostrado que tanto el SCOBY crecido en condiciones estériles como no estériles mantiene una microbiota basal compuesta por bacterias ácido-acéticas y levaduras, acompañadas por otras bacterias que contribuyen a la variabilidad microbiana del fermento. El tiempo de fermentación también afecta las poblaciones microbianas. Al inicio, las bacterias ácido-acéticas son más abundantes en la película que en la bebida llegando a un equilibrio a los 8 días mientras que las levaduras se mantienen estables en ambas fases durante toda la fermentación. El mantenimiento de la proporción del microbioma basal es crítico para que funcione toda la comunidad [125]. Para el mantenimiento del SCOBY, los microorganismos deben realizar la síntesis de celulosa. Una de los géneros más importantes responsables de ello es *Komagataeibacter xylinus*, (anteriormente denominado *Gluconacetobacter xylinus*) y es considerado el microorganismo más eficiente en la producción de celulosa microbiana en la kombucha [126].

En el SCOBY los microorganismos coexisten en una relación simbiótica que se extiende al producto fermentado. A diferencia del kefir y el kefir de agua, las bacterias dominantes de esta fermentación son las bacterias ácido-acéticas, que son capaces de utilizar alcohol para oxidarlo a ácido acético y ácido glucónico. Estos microorganismos llevan a cabo una fermentación aeróbica y –por lo tanto– requieren oxígeno para su crecimiento y actividad metabólica. Las levaduras convierten la sacarosa en glucosa y fructosa y producen etanol. Las bacterias acéticas convierten la glucosa a ácido glucónico y la fructosa a ácido acético. Los compuestos derivados de la caféina del té estimulan la síntesis de celulosa por las bacterias ácido-acéticas. El ácido acético estimula a las levaduras a producir etanol, que a su vez es utilizado para el crecimiento y producción de ácido acético por las bacterias acéticas [127]. Además, la muerte y auto-lisis de las levaduras libera vitaminas y otros nutrientes que son utilizados por las bacterias. Algunos microorganismos crecen en simultáneo, pero otros requieren los productos de fermentación de otros y crecen de manera secuencial, cambiando el predominio de cada microorganismo a lo largo de la fermentación [128]. Por otro lado, los ácidos orgánicos y el etanol actúan como bioconservantes, evitando la colonización del SCOBY y la kombucha por otros microorganismos. Dado que la composición de ácidos orgánicos depende de las variables de proceso mencionadas, es necesario controlar la fermentación para asegurar la calidad del producto desde el punto de vista de la seguridad [121].

Esta bebida se elabora de manera artesanal y la proporción exacta de componentes puede variar según las condiciones de elaboración. La primera etapa es la preparación del té azucarado que se realiza añadiendo hojas u hebras de té a agua

hirviendo y se deja en infusión durante unos 10 minutos antes de separarlas. Luego se agrega sacarosa en una concentración entre 5 a 10 g/100 ml, que se disuelve en el té caliente y se deja enfriar. El té se vierte en un recipiente limpio de boca ancha y se acidifica mediante el agregado de kombucha ya preparada. El SCOBY se coloca sobre la superficie y el frasco se cubre cuidadosamente con un paño limpio de algodón. Se incuba a temperatura ambiente (entre 20 y 30 ° C) durante 7 a 60 días. Durante la fermentación, se forma una nueva película (denominada comúnmente hija) en la superficie del té que se retira de la superficie y se guarda en un pequeño volumen de té fermentado. La bebida se pasa a través de un liencillo y es almacenada en botellas tapadas a 4 °C [122, 123, 129].

La fermentación está influenciada por muchos factores, como la temperatura, la cantidad de oxígeno, el CO₂ disuelto, así como por la naturaleza y composición del medio, el origen del SCOBY, la concentración de azúcar, la variedad de té utilizado, el tiempo de fermentación y la temperatura utilizada [122, 130]. Cualquier variación en estos factores puede afectar la velocidad de fermentación, las propiedades organolépticas, la calidad nutricional y las características fisicoquímicas del producto. Con respecto al sustrato a fermentar, se han utilizado diferentes variedades de té negro y té verde como también otros sustratos entre los que se pueden mencionar agua de coco o jugo de frutas [129, 131].

El tiempo de fermentación es uno de los parámetros de proceso que produce mayor cambio en las características del producto. Este tiempo varía entre 7 y 60 días siendo entre 10 y 15 días el tiempo recomendado para obtener los mejores productos con buenas características organolépticas [123]. Además, después de los 7 días de fermentación se observa un incremento en los polifenoles y una mayor diversidad microbiana [128]. Por otro lado, la acumulación de gas en la interfase entre la película y el producto bloquea la transferencia de nutrientes, creando un entorno desfavorable para los microorganismos y un producto más avinagrado. Estos tiempos varían dependiendo de la temperatura de fermentación siendo la recomendada entre 22 °C y 30 °C [123]. Otra variable importante en la fermentación del té de kombucha es el oxígeno necesario para la fermentación aeróbica llevada a cabo por las bacterias ácido acéticas. En cultivos estáticos la difusión de oxígeno es un factor limitante que podría afectar la producción y calidad de la celulosa. Sin embargo, la agitación no es recomendada por afectar la formación de la película. El conocimiento de la cinética de producción de los metabolitos bacterianos durante la fermentación y el efecto de las variables del proceso, es crucial para comprender las propiedades del té de kombucha preparado en diferentes condiciones, para optimizar su producción industrial.

La popularidad de la kombucha está impulsada por su potencial uso como alimento funcional debido a los supuestos beneficios para la salud que se le atribuyen basados en la apreciación personal. Sin embargo, la evidencia científica que respalde los beneficios de kombucha para la salud humana es limitada [127, 132]. Los pocos estudios existentes hasta el momento incluyen estudios *in vitro* que describen un efecto antimicrobiano, antioxidante y anticancerígeno [127, 130] y estudios *in*

vivo que demuestran un efecto hipoglucémico en ratas diabéticas, disminución de especies reactivas al oxígeno en hígado y riñón de ratas alimentadas con dieta rica en colesterol (efecto antioxidante), efecto cicatrizante entre otros [133]. Sin embargo no hay estudios en humanos validados [132].

Los estudios *in vitro* sugieren que los efectos benéficos de este producto están asociados al conjunto de metabolitos que se producen durante la fermentación entre los que se pueden mencionar el ácido glucónico, el ácido acético, las vitaminas y los compuestos fenólicos [132, 134]. Si bien el efecto benéfico para la salud ha sido asociado a los microorganismos y los metabolitos producidos durante el proceso de fermentación, no se pueden descartar los efectos asociados al propio té con su aporte de polifenoles y compuestos antioxidantes [122]. Con respecto al rol de los microorganismos se requieren nuevas investigaciones para obtener evidencias sobre su potencial efecto probiótico [134].

El consumo de kombucha fue algunas veces asociado a reacciones adversas (pero no siempre confirmado), incluyendo hiponatremia, reacción alérgica, ictericia y náuseas, vómitos, dolor de cabeza y dolor de cuello; acidosis metabólica, hepatotoxicidad y hepatitis colestásica, trastornos renales [123, 132]. Está contraindicado en embarazadas y durante el periodo de lactancia [132, 134].

En nuestro país la comercialización de este producto está prohibida hasta el momento (B.O. 13/04/05 SALUD PUBLICA Disposición 1829/2005 - ANMAT). Sin embargo, la FDA (siglas en inglés de Food and Drug Administration), indica que controlando las condiciones de elaboración, la kombucha es segura para consumo humano y recomienda que el tiempo de fermentación no supere los 10 días (FDA *Model Food Code Number*, 2013). Nuevos estudios son necesarios para definir el efecto en la salud/toxicidad de la kombucha.

VI. CONCLUSIONES

En este capítulo se han descrito tres alimentos fermentados artesanales que se caracterizan por tener aspectos comunes y diferentes que determinan su identidad. Las diferencias las constituyen principalmente los microorganismos que conforman cada fermento y en consecuencia los metabolitos que se producen durante el desarrollo de cada bebida. Con respecto a los aspectos comunes se puede destacar que todo ellos son productos fermentados por una microbiota compleja inmovilizada en una matriz y se asocia su consumo a un efecto benéfico en la salud. Durante la fermentación los microorganismos sintetizan los componentes de la matriz y se genera nueva biomasa de gránulos o película, siendo la síntesis del/los componentes de la matriz esencial para seguir manteniendo el fermento.

La microbiota del kefir, kefir de agua y kombucha se presenta como una potencial fuente de microorganismos probióticos. Hasta el momento no se ha podido dilucidar completamente las interacciones existentes entre los microorganismos debido a la

complejidad y diversidad de cada comunidad. Comprender el papel beneficioso de cada uno de ellos y sus metabolitos permitiría el diseño de nuevos productos comerciales “hechos a medida del consumidor” que contengan mezclas definidas con beneficios específicos para la salud.

El interés de los consumidores por alimentos artesanales y naturales con propiedades benéficas específicas para la salud los ha llevado a descubrir y revalorizar estos “nuevos ‘viejos’ alimentos” para incluirlos en su dieta.

VII. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores no declaran poseer conflictos de interés.

VIII. BIBLIOGRAFÍA CITADA

[1] Tamang, J. P., Watanabe, K., & Holzapfel, W. H. (2016). Review: Diversity of microorganisms in global fermented foods and beverages. *Frontiers in microbiology*. 2016; 7: 377.

[2] Dimidi, E., Cox, S. R., Rossi, M., & Whelan, K. (2019). Fermented Foods: Definitions and characteristics, impact on the gut microbiota and effects on gastrointestinal health and disease. *Nutrients*, 11(8), 1806

[3] Sanlier, N., Gökçen, B. B., & Sezgin, A. C. (2017). Health benefits of fermented foods. *Critical reviews in food science and nutrition*. 25, 1–22. doi: 10.1080/10408398.2017. 1383355

[4] González S, Fernández-Navarro T, Arbolea S, de los Reyes-Gavilán CG, Salazar N & Gueimonde M (2019) Fermented Dairy Foods: Impact on Intestinal Microbiota and Health-Linked Biomarkers. *Frontiers in microbiology*. 10:1046. doi: 10.3389/fmicb.2019.01046

[5] Rezac S, Kok CR, Heermann M & Hutkins R (2018) Fermented Foods as a Dietary Source of Live Organisms. *Frontiers in microbiology*. 9:1785. doi: 10.3389/fmicb.2018.01785

[6] Marco, M. L., Heeney, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., Foligné, B., Gänzle, M., Kort, R., Pasin, G., Pihlanto, A, Smid, E.J., & Hutkins R. (2017). Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current opinion in biotechnology*, 44, 94-102.

[7] Durack, J., & Lynch, S. V. (2019). The gut microbiome: Relationships with disease and opportunities for therapy. *Journal of experimental medicine*, 216(1), 20-40

[8] Garrote, G. L., Abraham, A. G., & De Antoni, G. L. (2001). Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. *Journal of dairy research*, 68(4), 639-652

[9] St-Onge, M. P., Farnworth, E. R., Savard, T., Chabot, D., Mafu, A., & Jones, P. J. (2002). Kefir

consumption does not alter plasma lipid levels or cholesterol fractional synthesis rates relative to milk in hyperlipidemic men: a randomized controlled trial [ISRCTN10820810]. *BMC complementary and alternative medicine*, 2(1), 1

[10] Farnworth, E. R., & Mainville, I. (2008). Kefir—A fermented milk product. In *Handbook of fermented functional foods* (pp. 89-127). CRC Press.

[11] Otlés, S., & Cagindi, O. (2003). Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. *Pakistan journal of nutrition*, 2(2), 54-59

[12] Farnworth, E. R. (2006). Kefir—a complex probiotic. *Food science and technology bulletin: Fu*, 2(1), 1-17

[13] Nielsen, B., Gürakan, G. C., & Ünlü, G. (2014). Kefir: a multifaceted fermented dairy product. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 6(3-4), 123-135

[14] Bengoa, A. A., Iraporda, C., Garrote, G. L., & Abraham, A. G. (2019). Kefir micro-organisms: their role in grain assembly and health properties of fermented milk. *Journal of applied microbiology*, 126(3), 686-700

[15] Garrote, G. L., Abraham, A. G., & De Antoni, G. L. (2010). Microbial Interactions in Kefir: A natural probiotic drink. *Biotechnology of lactic acid bacteria: novel applications*, 327

[16] Plessas, S., Nouska, C., Mantzourani, I., Kourkoutas, Y., Alexopoulos, A., & Bezirtzoglou, E. (2017). Microbiological exploration of different types of kefir grains. *Fermentation*, 3(1), 1

[17] Marshall, V. M., Cole, W. M., & Brooker, B. E. (1984). Observations on the structure of kefir grains and the distribution of the microflora. *Journal of applied bacteriology*, 57(3), 491-497

[18] Pintado, M. E., Da Silva, J. L., Fernandes, P. B., Malcata, F. X., & Hogg, T. A. (1996). Microbiological and rheological studies on Portuguese kefir grains. *International journal of food science & technology*, 31(1), 15-26

[19] Mayo, B., Ammor, M. S., Delgado, S., & Alegría, A. (2010). Fermented milk products in *Fermented foods and beverages of the world*, 263-288

[20] Marsh, A. J., O'Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2013). Sequencing-based analysis of the bacterial and fungal composition of kefir grains and milks from multiple sources. *PLoS one*, 8(7), e69371

[21] Simova, E., Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, T., Frengova, G., & Spasov, Z. (2002). Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *Journal of industrial microbiology and biotechnology*, 28(1), 1-6

[22] Beshkova, D. M., Simova, E. D., Simov, Z. I., Frengova, G. I., & Spasov, Z. N. (2002). Pure cultures for making kefir. *Food microbiology*, 19(5), 537-544

- [23] Witthuhn, R. C., Schoeman, T., & Britz, T. J. (2005). Characterisation of the microbial population at different stages of Kefir production and Kefir grain mass cultivation. *International dairy journal*, 15(4), 383-389
- [24] Dobson, A., O'Sullivan, O., Cotter, P. D., Ross, P., & Hill, C. (2011). High-throughput sequence-based analysis of the bacterial composition of kefir and an associated kefir grain. *FEMS microbiology letters*, 320(1), 56-62
- [25] Rosa, D.D., Dias, M.M., Grzeškowiak, Ł.M., Reis, S.A., Conceição, L.L., and Maria do Carmo, G.P. (2017) Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits. *Nutrition research reviews* 30(1), 82-96
- [26] Garrote, G. L., Abraham, A. G., & De Antoni, G. L. (1997). Preservation of kefir grains, a comparative study. *LWT-food science and technology*, 30(1), 77-84
- [27] Sarkar, S. (2008). Biotechnological innovations in kefir production: a review. *British food journal*, 110(3), 283-295
- [28] Prado, M. R., Blandón, L. M., Vandenberghe, L. P., Rodrigues, C., Castro, G. R., Thomaz-Soccol, V., & Soccol, C.R. (2015). Milk kefir: composition, microbial cultures, biological activities, and related products. *Frontiers in microbiology*, 6, 1177
- [29] Dertli, E., & Çon, A.H. (2017) Microbial diversity of traditional kefir grains and their role on kefir aroma. *LWT-food science and technology* 85, 151-157
- [30] Santos, J. P.V. (2008). *Avaliação da microbiota de grãos de kefir e atividade inibidora da bebida sobre algumas bactérias patogênicas* (Doctoral dissertation, MSc Thesis). Viçosa Brazil: Universidade Federal de Viçosa)
- [31] Garrote, G. L., Abraham, A. G., & De Antoni, G. L. (1998). Characteristics of kefir prepared with different grain [ratio] milk ratios. *Journal of dairy research*, 65(1), 149-154
- [32] Marshall, V. M. (1987). Fermented milks and their future trends: I. Microbiological aspects. *Journal of dairy research*, 54(4), 559-574
- [33] Leite, A. M. D. O., Miguel, M. A. L., Peixoto, R. S., Rosado, A. S., Silva, J. T., & Paschoalin, V. M. F. (2013). Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage. *Brazilian journal of microbiology*, 44(2), 341-349
- [34] Gao, W., Zhang, L., Feng, Z., Liu, H., Shigwedha, N., Han, X., Yi, H., Liu, W. & Zhang, S. (2015). Microbial diversity and stability during primary cultivation and subcultivation processes of Tibetan kefir. *International journal of food science & technology*, 50(6), 1468-1476.
- [35] Kotova, I. B., Cherdyntseva, T. A., & Netrusov, A. I. (2016). Russian kefir grains microbial composition and its changes during production process. In *Advances in microbiology, infectious diseases and public health* (pp. 93-121). Springer, Cham.

- [36] Londero, A., Hamet, M. F., De Antoni, G. L., Garrote, G. L., & Abraham, A. G. (2012). Kefir grains as a starter for whey fermentation at different temperatures: chemical and microbiological characterisation. *Journal of dairy research*, 79(3), 262-271
- [37] Gao, W., & Zhang, L. (2019). Comparative analysis of the microbial community composition between Tibetan kefir grains and milks. *Food Research International*. 116:137-144
- [38] Nalbantoglu, U., Cakar, A., Dogan, H., Abaci, N., Ustek, D., Sayood, K., & Can, H. (2014). Metagenomic analysis of the microbial community in kefir grains. *Food microbiology*, 41, 42-51
- [39] Garofalo, C., Osimani, A., Milanović, V., Aquilanti, L., De Filippis, F., Stellato, G., Di Mauro, S., Turchetti, B., Buzzini, P., Ercolini, D., & Clementi, F. (2015). Bacteria and yeast microbiota in milk kefir grains from different Italian regions. *Food microbiology*, 49, 123-133
- [40] Korsak, N., Taminiau, B., Leclercq, M., Nezer, C., Crevecoeur, S., Ferauche, C., Detry, E., Delcenserie, V., & Daube, G. (2015). Evaluation of the microbiota of kefir samples using metagenetic analysis targeting the 16S and 26S ribosomal DNA fragments. *Journal of dairy science*, 98(6), 3684-3689
- [41] Hallé, C., Leroi, F., Dousset, X., & Pidoux, M. (1994). Les kefir: des associations bactéries lactiques-levures. *Bactéries lactiques: Aspects fondamentaux et technologiques*, 2, 169-182
- [42] Walsh, A. M., Crispie, F., Kilcawley, K., O'Sullivan, O., O'Sullivan, M. G., Claesson, M. J., & Cotter, P. D. (2016). Microbial succession and flavor production in the fermented dairy beverage kefir. *Msystems*, 1(5), e00052-16
- [43] Diosma, G., Romanin, D. E., Rey-Burusco, M. F., Londero, A., & Garrote, G. L. (2014). Yeasts from kefir grains: isolation, identification, and probiotic characterization. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(1), 43-53
- [44] Zanirati, D. F., Abatemarco Jr, M., de Cicco Sandes, S. H., Nicoli, J. R., Nunes, Á. C., & Neumann, E. (2015). Selection of lactic acid bacteria from Brazilian kefir grains for potential use as starter or probiotic cultures. *Anaerobe*, 32, 70-76
- [45] John, S.M., & Deeseenthum, S. (2015) Properties and benefits of kefir] A review. *Songklanakarin journal of science and technology* 37(3), 275-282
- [46] Bourrie, B.C.T., Willing, B.P. & Cotter, P.D. (2016) The Microbiota and Health Promoting Characteristics of the Fermented Beverage Kefir. *Frontiers in microbiology* 7, 647. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00647
- [47] Sharifi, M., Moridnia, A., Mortazavi, D., Salehi, M., Bagheri, M., & Sheikhi, A. (2017) Kefir: a powerful probiotic with anticancer properties. *Medical Oncology* 34(11), 183
- [48] Hugo, A. A., Kakisu, E., De Antoni, G. L., & Pérez, P. F. (2008). Lactobacilli antagonize biological effects of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in vitro. *Letters in applied microbiology*, 46(6), 613-619

- [49] Kakisu, E., Abraham, A.G., Tironi Farinati, C., Ibarra, C., & De Antoni, G.L. (2013) *Lactobacillus plantarum* isolated from kefir protects vero cells from cytotoxicity by type-II shiga toxin from *Escherichia coli* O157: H7. *Journal of dairy research* 80, 64–71
- [50] Bolla, P.A.; Abraham, A.G.; Perez, P.F., & Serradell, MA. (2016) Kefir-isolated bacteria and yeasts inhibit *Shigella flexneri* invasion and modulate pro-inflammatory response on intestinal epithelial cells. *Beneficial microbes*. 7, 103–110
- [51] Golowczyc, M.A., Mobili, P., Garrote G.L., Abraham, A.G., & De Antoni, G.L. (2007) Protective action of *Lactobacillus kefir* carrying S-layer protein against *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *International journal of food microbiology* 118, 264–273
- [52] Romanin, D., Serradell, M., Maciel, D.G., Lausada, N., Garrote, G.L., & Rumbo, M. (2010) Down-regulation of intestinal epithelial innate response by probiotic yeasts isolated from kefir. *International journal of food microbiology* 140(2-3), 102-108
- [53] Romanin, D.E., Llopis, S., Genovés, S., Martorell, P., Ramón, V.D., Garrote, G.L., & Rumbo, M. (2016) Probiotic yeast *Kluyveromyces marxianus* CIDCA 8154 shows anti-inflammatory and anti-oxidative stress properties in *in vivo* models. *Beneficial microbes* 7(1), 83-93
- [54] Cho, Y.J., Kim, D.H., Jeong, D., Seo, K.H., Jeong, H.S., Lee, H.G., & Kim, H. (2018) Characterization of yeasts isolated from kefir as a probiotic and its synergic interaction with the wine byproduct grape seed flour/extract. *LWT-food Science and technology* 90, 535–539
- [55] de Lima, M.D.S.F., de Souza, K.M.S., Albuquerque, W.W.C., Teixeira, J.A.C., Cavalcanti, M.T.H., & Porto, A.L.F. (2017) *Saccharomyces cerevisiae* from Brazilian kefir-fermented milk: An *in vitro* evaluation of probiotic properties. *Microbial pathogens* 110, 670-677
- [56] Bolla, P.A., Carasi, P., De Antoni, G.L., & Serradell, M.A (2013) Protective effect of a mixture of kefir-isolated lactic acid bacteria and yeasts in a hamster model of *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe* 21, 28-33
- [57] Londero, A., Iraporda, C., Garrote, G.L., & Abraham, A.G. (2015) Cheese whey fermented with kefir micro-organisms: Antagonism against *Salmonella* and immunomodulatory capacity. *International journal of dairy technology* 68(1), 118-126
- [58] Slattery, C., Cotter, P. D., & W O'Toole, P. (2019). Analysis of health benefits conferred by *Lactobacillus* Species from Kefir. *Nutrients*, 11(6), 1252
- [59] Garrote, G.L., Abraham, A.G., & De Antoni, G.L. (2000) Inhibitory power of kefir: the role of organic acids. *Journal of food protection* 63(3), 364-369
- [60] Iraporda, C., Júnior, M. A., Neumann, E., Nunes, Á. C., Nicoli, J.R., Abraham, A.G., & Garrote, G.L. (2017) Biological activity of the non-microbial fraction of kefir: antagonism against intestinal pathogens. *Journal of dairy research* 84(3), 339-345

- [61] Powell, J. E., Witthuhn, R. C., Todorov, S. D., & Dicks, L. M. T. (2007). Characterization of bacteriocin ST8KF produced by a kefir isolate *Lactobacillus plantarum* ST8KF. *International dairy journal*, 17(3), 190-198
- [62] Magalhães, K.T., Dragone, G., de Melo Pereira, G.V., Oliveira, J.M., Domingues, L., Teixeira, J.A., Almeida e Silva J.B., & Schwan, R.F. (2011) Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. *Food chemistry* 126(1), 249-253
- [63] Iraporda, C., Romanin, D.E., Rumbo, M., Garrote, G.L., and Abraham, A.G. (2014) The role of lactate on the immunomodulatory properties of the nonbacterial fraction of kefir. *Food research international* 62, 247-253
- [64] Golowczyc, M.A., Gugliada, M.J., Hollmann, A., Delfederico, L., Garrote G.L., Abraham, A.G., Semorile, L., & De Antoni, G. (2008) Characterization of homofermentative lactobacilli isolated from kefir grains: potential use as probiotic. *Journal of dairy research* 75, 211-217
- [65] de Moreno de LeBlanc, A., Matar, C., Farnworth, E., & Perdigon, G. (2006) Study of cytokines involved in the prevention of a murine experimental breast cancer by kefir. *Cytokine* 34(1-2), 1-8.
- [66] Iraporda, C., Errea, A., Romanin, D.E., Cayet, D., Pereyra, E., Pignataro, O., Sirard, J.C., Garrote, G.L., Abraham, A.G., & Rumbo, M. (2015) Lactate and short chain fatty acids produced by microbial fermentation downregulate proinflammatory responses in intestinal epithelial cells and myeloid cells. *Immunobiology* 220(10), 1161-1169
- [67] Iraporda, C., Romanin, D.E., Bengoa, A.A., Errea, A.J., Cayet, D., Foligné, B., Sirard, J.C., Garrote, G.L., Abraham, A.G., & Rumbo, M. (2016) Local treatment with lactate prevents intestinal inflammation in the TNBS-induced colitis model. *Frontiers in immunology* 7, 651
- [68] Bengoa, A.A., Zavala, L., Carasi, P., Trejo, S.A., Bronsoms, S., Serradell, M.A, Garrote, G.L., & Abraham, A.G. (2018b) Simulated gastrointestinal conditions increase adhesion ability of *Lactobacillus paracasei* strains isolated from kefir to Caco-2 cells and mucin. *Food research international* 103, 462-467
- [69] Kim, D.H., Kim, H., Jeong, D., Kang, I.B., Chon, J.W., Kim, H.S. & Seo, K.H. (2017) Kefir alleviates obesity and hepatic steatosis in high-fat diet-fed mice by modulation of gut microbiota and mycobiota: targeted and untargeted community analysis with correlation of biomarkers. *Journal of nutritional biochemistry* 44, 35-43
- [70] Kim, D.H., Jeong, D., Song, K.Y., Kang, I.B., Kim, H., & Seo, K.H. (2018) Culture supernatant produced by *Lactobacillus kefir* from kefir inhibits the growth of *Cronobacter sakazakii*. *Journal of dairy research* 85(1), 98-103
- [71] Bellikci-Koyu, E., Sarer-Yurekli, B. P., Akyon, Y., Aydin-Kose, F., Karagozlu, C., Ozgen, A. G., Brinkmann A., Nitsche A., Ergunay K., Yilmaz E., & Buyuktuncer, Z. (2019). Effects of Regular

Kefir Consumption on Gut Microbiota in Patients with Metabolic Syndrome: A Parallel-Group, Randomized, Controlled Study. *Nutrients*, 11(9), 2089

[72] Rimada, P.S., & Abraham, A.G. (2003) Comparative study of different methodologies to determine the exopolysaccharide produced by kefir grains in milk and whey. *Le Lait* 83(1), 79-87

[73] Zajsek, K., Kolar, M., & Gorsek, A. (2011) Characterisation of the exopolysaccharide kefiran produced by lactic acid bacteria entrapped within natural kefir grains. *International journal of dairy technology* 64(4), 544-548

[74] Abraham, A.G, Medrano, M., Piermaria, J.A, & Mozzi, F. (2010) Novel Applications of Polysaccharides from Lactic Acid Bacteria: A Focus on Kefiran. In: Food Hydrocolloids: Characteristics, Properties and Structures. Ed Clarence S. Hollingworth. 253-271 of 323 ISBN: 978-1-60876-222-4. Nova Science Publishers. Hauppauge NY. USA

[75] Piermaria, J., Diosma, G., Aquino, C., Garrote, G.L., & Abraham, A.G. (2015) Edible kefiran films as vehicle for probiotic microorganisms. *Innovative food science and emerging technologies* 32, 193-199

[76] Rodrigues, K.L., Caputo, L.R., Carvalho, J.C., Evangelista, J., & Schneedorf, J.M. (2005) Antimicrobial and healing activity of kefir and kefiran extract. *International journal of antimicrobial agents* 25, 404-408

[77] Vinderola, G., Perdígón, G., Duarte, J., Farnworth, E., & Matar, C. (2006) Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* on the gut mucosal immunity. *Cytokine* 36(5-6), 254-260

[78] Kwon, O.K., Ahn, K.S., Lee, M.Y., Kim, S.Y., Park, B.Y., Kim, M.K., Lee I.Y., Oh, S.R., & Lee, H.K. (2008) Inhibitory effect of kefiran on ovalbumin-induced lung inflammation in a murine model of asthma. *Archives of pharmacal research* 31(12), 1590-1596

[79] Hamet, M.F., Medrano, M., Pérez, P.F., & Abraham, A.G. (2016). Oral administration of kefiran exerts a bifidogenic effect on BALB/c mice intestinal microbiota. *Beneficial microbes*, 7(2), 237-246

[80] Medrano, M., Racedo, S.M., Rolny, I.S., Abraham, A.G., & Pérez, P.F. (2011) Oral administration of kefiran induces changes in the balance of immune cells in a murine model. *Journal of agricultural and food chemistry* 59(10), 5299-5304

[81] Medrano, M., Pérez, P.F., & Abraham, A.G. (2008) Kefiran antagonizes cytopathic effects of *Bacillus cereus* extracellular factors. *International journal of food microbiology* 122, 1-7

[82] Maeda, H., Zhu, X., Omura, K., Suzuki, S., & Kitamura, S. (2004). Effects of an exopolysaccharide (kefiran) on lipids, blood pressure, blood glucose, and constipation. *Biofactors*, 22(1-4), 197-200.

- [83] Hamet, M. F., Londero, A., Medrano, M., Vercammen, E., Van Hoorde, K., Garrote, G. L., Huys, G., Vandamme, P., & Abraham, A. G. (2013). Application of culture-dependent and culture-independent methods for the identification of *Lactobacillus kefiranofaciens* in microbial consortia present in kefir grains. *Food microbiology*, 36(2), 327-334
- [84] Jeong, D., Kim, D.H., Kang, I.B., Kim, H., Song, K.Y., Kim, H.S., & Seo, K.H. (2017) Characterization and antibacterial activity of a novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* DN1 isolated from kefir. *Food control* 78, 436-442
- [85] de Paiva, I.M., da Silva Steinberg, R., Lula, I.S., de Souza-Fagundes, E.M., de Oliveira Mendes, T., Bell, M.J.V., Nicoli, J.R., Cantini Nunes, A., & Neumann, E. (2016) *Lactobacillus kefiranofaciens* and *Lactobacillus satsumensis* isolated from Brazilian kefir grains produce alpha-glucans that are potentially suitable for food applications. *LWT-food science and technology* 72, 390-398
- [86] Hamet, M.F., Piermaria, J.A., & Abraham, A.G. (2015) Selection of EPS-producing *Lactobacillus* strains isolated from kefir grains and rheological characterization of the fermented milks. *LWT] food science and technology* 63(1), 129-135
- [87] Gangoiti, M.V., Puertas, A.I., Hamet, M.F., Peruzzo, P.J., Llamas, M.G., Medrano, M., Prieto, A., Dueñas, M.T., & Abraham, A.G. (2017) *Lactobacillus plantarum* CIDCA 8327: An α -glucan producing-strain isolated from kefir grains. *Carbohydrate polymers* 170, 52-59
- [88] Bengoa, A.A., Llamas, M.G., Iraporda, C., Dueñas, M.T., Abraham, A.G., & Garrote, G.L. (2018a) Impact of growth temperature on exopolysaccharide production and probiotic properties of *Lactobacillus paracasei* strains isolated from kefir grains. *Food microbiology* 69, 212-218
- [89] Zavala, L., Golowczyc, M.A., Van Hoorde, K., Medrano, M., Huys, G., Vandamme, P., & Abraham, A.G. (2016) Selected *Lactobacillus* strains isolated from sugary and milk kefir reduce *Salmonella* infection of epithelial cells *in vitro*. *Beneficial microbes* 7(4), 585-595
- [90] Di, W., Zhang, L., Wang, S., Yi, H., Han, X., Fan, R., & Zhang, Y. (2017) Physicochemical characterization and antitumour activity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus casei* SB27 from yak milk. *Carbohydrate polymers* 171, 307-315
- [91] Dallas, D.C., Citerne, F., Tian, T., Silva, V.L., Kalanetra, K.M., Frese, S.A., Robinson, R.C., Mills, D.A., & Barile, D. (2016) Peptidomic analysis reveals proteolytic activity of kefir microorganisms on bovine milk proteins. *Food chemistry* 197, 273-284
- [92] Tung, Y.T., Chen, H.L., Wu, H.S., Ho, M.H., Chong, K.Y., & Chen, C.M. (2018) Kefir Peptides Prevent Hyperlipidemia and Obesity in High-Fat-Diet-Induced Obese Rats via Lipid Metabolism Modulation. *Molecular nutrition & food research* 62(3), 1700505
- [93] Santanna, A.F., Filete, P.F., Lima, E.M., Porto, M.L., Meyrelles, S.S., Vasquez, E.C., Endringer, D. C., Lenz, D., Abdalla, D.S.P., Pereira, T.M.C., & Andrade, T.U. (2017) Chronic administration

of the soluble, nonbacterial fraction of kefir attenuates lipid deposition in LDLr^{-/-} mice. *Nutrition* 35, 100-105

[94] Brasil, G. A., de Almeida Silva-Cutini, M., Moraes, F.D.S.A., Pereira, T.D.M.C., Vasquez, E.C., Lenz, D., Souza Bissoli, N., Coutinho, D., de Lima, E.M., Campana Biancardi, V., Ferreira Maia, J., Maia, J.F., & Uggere de Andrade, T. (2018) The benefits of soluble non-bacterial fraction of kefir on blood pressure and cardiac hypertrophy in hypertensive rats are mediated by an increase in baroreflex sensitivity and decrease in angiotensin-converting enzyme activity. *Nutrition* 51, 66-72

[95] Fiorda, F. A., de Melo Pereira, G. V., Thomaz-Soccol, V., Rakshit, S. K., Pagnoncelli, M. G. B., de Souza Vandenberghe, L. P., & Soccol, C. R. (2017). Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation-A review. *Food microbiology*, 66, 86-95.

[96] Marsh, A. J., O'Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2013). Sequence-based analysis of the microbial composition of water kefir from multiple sources. *FEMS microbiology letters*, 348(1), 79-85

[97] Stadie, J., Gulitz, A., Ehrmann, M. A., & Vogel, R. F. (2013). Metabolic activity and symbiotic interactions of lactic acid bacteria and yeasts isolated from water kefir. *Food microbiology*, 35(2), 92-98.

[98] Pidoux, M. (1989). The microbial flora of sugary kefir grain (the gingerbeer plant): biosynthesis of the grain from *Lactobacillus hilgardii* producing a polysaccharide gel. *MIRCEN journal of applied microbiology and biotechnology*, 5(2), 223-238.

[99] Laureys, D., & De Vuyst, L. (2014). Microbial species diversity, community dynamics, and metabolite kinetics of water kefir fermentation. *Applied environmental microbiology*, 80(8), 2564-2572

[100] Pidoux, M., De Ruiter, G. A., Brooker, B. E., Colquhoun, I. J., & Morris, V. J. (1990). Microscopic and chemical studies of a gelling polysaccharide from *Lactobacillus hilgardii*. *Carbohydrate polymers*, 13(4), 351-362.

[101] Pidoux, M., Brillouet, J. M., & Quemener, B. (1988). Characterization of the polysaccharides from a *Lactobacillus brevis* and from sugary kefir grains. *Biotechnology letters*, 10, 415-420.

[102] Verce, M., De Vuyst, L., & Weckx, S. (2019). Shotgun Metagenomics of a Water Kefir Fermentation Ecosystem Reveals a Novel *Oenococcus* Species. *Frontiers in microbiology*, 10, 479.

[103] Laureys, D., Van Jean, A., Dumont, J., & De Vuyst, L. (2017). Investigation of the instability and low water kefir grain growth during an industrial water kefir fermentation process. *Applied microbiology and biotechnology*, 101(7), 2811-2819.

[104] Waldherr, F. W., Doll, V. M., Meißner, D., & Vogel, R. F. (2010). Identification and

characterization of a glucan-producing enzyme from *Lactobacillus hilgardii* TMW 1.828 involved in granule formation of water kefir. *Food microbiology*, 27(5), 672-67

[105] Fels, L., Jakob, F., Vogel, R. F., & Wefers, D. (2018). Structural characterization of the exopolysaccharides from water kefir. *Carbohydrate polymers*, 189, 296-303.

[106] Miguel, M.G.C.P., Cardoso, P.G., Magalhaes, K.T., & Schwan, R.F. (2011). Profile of microbial communities present in tibico (sugary kefir) grains from different Brazilian states. *World journal of microbiology and biotechnology*. 27, 1875e1884.

[107] Ward H.M. (1892) The ginger-beer plant, and the organisms composing it: a contribution to the study of fermentation-yeasts and bacteria. *Philosophical transactions of the Royal Society London B* 183: 125–197.

[108] Lutz, ML., (1899) Recherches biologiques sur la constitution du Tibi. *Bulletin de la Societe Mycologique de France* 15: 68–72.

[109] Gulitz, A., Stadie, J., Wenning, M., Ehrmann, M. A., & Vogel, R. F. (2011). The microbial diversity of water kefir. *International journal of food microbiology*, 151(3), 284-288.

[110] Laureys, D., Aerts, M., Vandamme, P., & De Vuyst, L. (2018). Oxygen and diverse nutrients influence the water kefir fermentation process. *Food microbiology*, 73, 351-361

[111] Laureys D, Aerts M, Vandamme P & De Vuyst L (2019). The Buffer Capacity and Calcium Concentration of Water Influence the Microbial Species Diversity, Grain Growth, and Metabolite Production During Water Kefir Fermentation. *Frontiers in microbiology*. 10:2876. doi: 10.3389/fmicb.2019.02876

[112] Leroi, F., & Pidoux, M. (1993). Characterization of interactions between *Lactobacillus hilgardii* and *Saccharomyces florentinus* isolated from sugary kefir grains. *Journal of applied bacteriology*, 74(1), 54] 60.

[113] Leroi, F., & Pidoux, M. (1993). Detection of interactions between yeasts and lactic acid bacteria isolated from sugary kefir grains. *Journal of applied bacteriology*, 74(1), 48-53.

[114] Laureys, D., Cnockaert, M., De Vuyst, L., & Vandamme, P. (2016). Bifidobacterium aquikefiri sp. nov., isolated from water kefir *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 66(3), 1281-1286.

[115] Xu, D., Bechtner, J., Behr, J., Eisenbach, L., Geißler, A. J., & Vogel, R. F. (2019). Lifestyle of *Lactobacillus hordei* isolated from water kefir based on genomic, proteomic and physiological characterization. *International journal of food microbiology*, 290, 141-149

[116] Alsayadi, M., Al Jawfi, Y., Belarbi, M., & Sabri, F. Z. (2013). Antioxidant potency of water kefir. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2(6), 2444.

[117] Diniz, R.O., Garla, L.K., Carvalho, J.C.T., & Schneedorf, J.M., (2003). Study of

antiinflammatory activity of tibetan mushroom, a symbiotic culture of bacteria and fungi encapsulated into a polysaccharide matrix. *Pharmacology research*, 47,49e52

[118] Rodrigues, K.L., Araújo, T.H., Schneedorf, J.M., Ferreira, C.S., Moraes, G.O.I., Coimbra, R.S., & Rodrigues, M.R., 2016. A novel beer fermented by kefir enhances anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities found isolated in its constituents. *Journal of functional foods* 21, 58e69.

[119] Abetamarco J.M., Sandes, S. H. C., Ricci, M. F., Arantes, R. M. E., Nunes, Á. C., Nicoli, J. R., & Neumann, E. (2018). Protective effect of *Lactobacillus diolivorans* 1Z, isolated from Brazilian kefir, against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in experimental murine models. *Frontiers in microbiology*, 9.

[120] Chen, Y. T., Lin, Y. C., Lin, J. S., Yang, N. S., & Chen, M. J. (2018). Sugary Kefir Strain *Lactobacillus mali* APS1 Ameliorated Hepatic Steatosis by Regulation of SIRT-1/Nrf-2 and Gut Microbiota in Rats. *Molecular nutrition & food research*, 62(8), 1700903

[121] Liu, C. H., Hsu, W. H., Lee, F. L., & Liao, C. C. (1996). The isolation and identification of microbes from a fermented tea beverage, Haipao, and their interactions during Haipao fermentation. *Food microbiology*, 13(6), 407-415.

[122] Marsh, A. J., O'Sullivan, O., Hill, C., Ross, R. P., & Cotter, P. D. (2014). Sequence-based analysis of the bacterial and fungal compositions of multiple kombucha (tea fungus) samples. *Food microbiology*, 38, 171-178.

[123] Villarreal-Soto, S. A., Beaufort, S., Bouajila, J., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018). Understanding kombucha tea fermentation: A review. *Journal of food science*, 83(3), 580-588.

[124] Chen, C., & Liu, B. Y. (2000). Changes in major components of tea fungus metabolites during prolonged fermentation. *Journal of applied microbiology*, 89(5), 834-839.

[125] Reva, O. N., Zaets, I. E., Ovcharenko, L. P., Kukharenko, O. E., Shpylova, S. P., Podolich, O. V., de Vera J.P., & Kozyrovska, N. O. (2015). Metabarcoding of the kombucha microbial community grown in different microenvironments. *AMB Express*, 5(1), 35.

[126] Nguyen, V. T., Flanagan, B., Gidley, M. J., & Dykes, G. A. (2008). Characterization of cellulose production by a *Gluconacetobacter xylinus* strain from Kombucha. *Current Microbiology*, 57(5), 449.

[127] Dufresne, C., & Farnworth, E. (2000). Tea, Kombucha, and health: a review. *Food research international*, 33(6), 409-421.

[128] Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63-72

[129] Kaewkod, T., Bovonsombut, S., & Tragoolpua, Y. (2019). Efficacy of Kombucha Obtained

from Green, Oolong, and Black Teas on Inhibition of Pathogenic Bacteria, Antioxidation, and Toxicity on Colorectal Cancer Cell Line. *Microorganisms*, 7(12), 700.

[130] Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea—microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 13(4), 538-550.

[131] Ayed, L., Abid, S. B., & Hamdi, M. (2017). Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of microbiology*, 67(1), 111-121.

[132] Kapp, J. M., & Sumner, W. (2019). Kombucha: A systematic review of the empirical evidence of human health benefit. *Annals of epidemiology*, 30, 66-70.

[133] Watawana, M. I., Jayawardena, N., Gunawardhana, C. B., & Waisundara, V. Y. (2015). Health, wellness, and safety aspects of the consumption of kombucha. *Journal of chemistry*, 2015 1-11.

[134] Kozyrovska et al., 2012 Kozyrovska, N. O., Reva, O. M., Goginyan, V. B., & De Vera, J. P. (2012). Kombucha microbiome as a probiotic: a view from the perspective of post-genomics and synthetic ecology. *Biopolymers and Cell*.28:103–110