

DESCRIPCIÓN Y ANÁLISIS DE LAS TÉCNICAS DE PRODUCCIÓN DE KÉFIR

de la MANO, Luciana Gabriela; KAIMEN, Alejandra Luján; LÓPEZ, Florencia;
MORENO, Lucia Inés; ALFAGEME, Celina; DROLAS, Cecilia

Universidad de Buenos Aires, Facultad de Medicina, Escuela de Nutrición,
Buenos Aires, Argentina

RESUMEN

Introducción: El kéfir es una bebida fermentada a base de un líquido inoculado con gránulos, el original formado por leche y su variante por agua y sacarosa, ambas bebidas poseen potencial efecto probiótico. **Objetivos:** Evaluar el proceso de producción y manipulación de los gránulos de kéfir **Materiales y métodos:** Se realizó una revisión bibliográfica a través de distintas bases de datos, en los idiomas español e inglés. Se recopilaron estudios publicados hasta Agosto 2019. **Resultados:** El gránulo de kéfir, tanto de leche como de agua, está compuesto por una asociación simbiótica de levaduras y bacterias albergados por un polisacárido. Para la técnica de realización se inocula el líquido con los gránulos (con la adición de sacarosa, frutas deshidratadas y limón para el de agua) y se deja fermentar a una temperatura y tiempo determinado, para su posterior filtrado y almacenamiento. Es muy importante el cuidado de las variables y su higiene. La elaboración del kéfir de agua a nivel industrial presenta una calidad inferior, respecto a la elaboración casera. Si bien están demostrados algunos beneficios, otros de ellos se encuentran aún en estudio. **Conclusiones:** Los beneficios para la salud de esta bebida, son otorgados por la concentración

de microorganismos; ésta depende de múltiples factores. La técnica de elaboración industrial del kéfir de agua, daña los gránulos dando como resultado, una bebida de menor calidad en comparación a la técnica casera.

Palabras claves: kéfir, kéfir de agua, gránulo, técnica, probióticos

ABSTRACT

Introduction: Kefir is a fermented beverage based on an inoculated liquid with grains, the original one consisting of milk and its variant of water and sucrose, both beverages have a potential probiotic effect. **Aim:** Evaluate the correct production and manipulation of kefir grains. **Materials and methods:** This bibliographic review was carried out through different databases, in English and Spanish. Studies were collected up to August 2019. **Results:** Milk and water kefir grains are composed of a symbiotic association of yeasts and bacteria harbored by a polysaccharide. For the production technique the liquid is inoculated with the grains (in the case of the water kefir with sucrose, dried fruits and lemon) and then it is left to ferment for a certain temperature and time for its sieved and storage. The control of the variables and hygiene is very important. The production of water kefir at an industrial level presents a lower final quality that is why it is mainly household produced. Although some benefits have been demonstrated, others are still under study. **Conclusions:** The health benefits of this beverage are provided by the concentration of microorganisms; it depends on multiple factors. The industrial elaboration technique damages the structure of the grains causing a low quality beverage compared to the household one.

Keywords: kefir, water kefir, grains, technique, probiotics.

I.INTRODUCCIÓN

Los alimentos fermentados se definen como alimentos o bebidas producidos a través del crecimiento microbiano controlado y la conversión de componentes alimenticios a través de la acción enzimática(1).

Históricamente la fermentación surge como un método de conservación de alimentos en la cual la generación natural de metabolitos antimicrobianos (ácidos orgánicos, etanol, bacteriocinas, etc) reduce el riesgo de descomposición. Esta técnica de producción es muy antigua y económica, ha sido una parte importante de la dieta humana, ya que la leche y los vegetales fermentados podían conservarse mejor que las materias primas frescas de las que se hicieron(2).

Existen dos métodos principales a partir de los cuales se puede realizar la fermentación en los alimentos. El primero, se produce mediante un proceso natural en los mismos. Estos son denominados “fermentos salvajes” o “fermentos espontáneos” y ocurren por ejemplo en el chucrut (repollo fermentado), kimchi (vegetales fermentados), entre otros. En el segundo método, se produce una adición de cultivos iniciadores que pueden ser naturales o comerciales. En el kéfir y kombucha por ejemplo, se utiliza este tipo de fermentación denominados “fermentos dependientes del cultivo”(3)(4).

Cada alimento fermentado va a tener sus propias características en cuanto a la microbiota que se forma. Esto depende del pH, la actividad del agua, la

concentración de sal, la temperatura y la composición de la matriz del alimento(4).

Actualmente, reapareció esta técnica y se hizo popular debido principalmente a sus prometedores beneficios para la salud(1)(3)(4), mejorando las propiedades nutricionales(5) y organolépticas del alimento(6). Algunos países como Estados Unidos y Canadá incluyen en sus guías alimentarias alimentos fermentados como el kéfir para ser recomendados a la población (7).

Este trabajo se centra en el estudio del kéfir y del kéfir de agua. Estos fermentos son bebidas formadas a base de un líquido inoculado por gránulos; el primero es el original formado por leche y el segundo, como su nombre lo indica, por agua. Ambas son bebidas probióticas, es decir, que contienen microorganismos vivos los cuales aportan beneficios para la salud cuando son administrados en cantidades adecuadas(8) y en situaciones fisiológicas determinadas(9).

La palabra kéfir deriva del turco keyif y su significado es “sentirse bien” después de ingerirlo. El kéfir de leche se originó en las montañas del Cáucaso. En la antigüedad, estas zonas se caracterizaban por la cría de cabras, que mediante su ordeño proveían de leche para su consumo. Ésta era almacenada en zurrones, bolsa hecha del pellejo o de estómago de animales, lo cual les garantizaba alimento en épocas donde escaseaba la producción. Los gránulos de kéfir provienen de esa misma zona donde se sigue produciendo de forma totalmente artesanal(10).

Hoy en día, el kéfir se consume en varios países del mundo tanto de leche como de agua. Si bien se encuentra industrializado también se realiza de forma casera en los hogares, cada vez con más frecuencia.

A partir de esto, se abre un interrogante sobre las variables a controlar para la elaboración de un producto seguro con alta calidad nutricional.

II.OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el proceso de producción y manipulación de los gránulos de kéfir

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Especificar la composición del gránulo de kéfir.
- Describir métodos de producción y desarrollo de las etapas.
- Conocer las diferentes formas de comercialización y conservación de los gránulos de kéfir.
- Advertir sobre los cuidados para la producción de kéfir.
- Mencionar los beneficios nutricionales y terapéuticos del consumo de kéfir.

III.METODOLOGÍA

Para este trabajo de investigación de revisión bibliográfica se realizó una búsqueda en las plataformas PubMed, Google Scholar, Scielo, Lilacs y Cochrane. Se recopilaron estudios publicados hasta Agosto 2019. Se usaron términos tales como “kéfir”, “kéfir de leche”, “búlgaros”, “granos de kéfir”, “nódulos”, “fermentados”, “técnica kéfir”, “fermentation kefir”, “grains”, “simbiosis kéfir”, “probioticos”, “kéfir contaminación”, “tibicos”, “kefir de agua”, “sugary kefir”, “water kefir fermentation”, “backslapping”, “freeze-dried kéfir”, “non dairy kefir”. Además, realizamos una búsqueda manual en el listado de referencias de artículos relevantes para adicionar estudios primarios.

Como criterio de exclusión tuvimos únicamente el idioma ya que se utilizaron solo estudios en español o inglés.

IV.RESULTADOS

IV.I Kéfir

Características generales del kéfir

El kéfir es una simbiosis de bacterias y levaduras que se produce a partir de gránulos de kéfir o cultivo madre(11). Según el codex alimentarius de la FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) y la OMS (Organización Mundial de la Salud), los gránulos de kéfir deben contener un mínimo de 10^7 ufc/g de microorganismos y el producto final debe contener al menos 10^4 ufc/g de levadura(12).

Composición del gránulo

Los gránulos llamados búlgaros son el cultivo iniciador en el kéfir de leche. Los mismos son pequeños, duros, de forma irregular, de color blanco amarillento con un diámetro que varía de 3 a 35 mm, con la apariencia de las florecencias del coliflor(11). Están compuestos por microorganismos inmovilizados en una matriz de polisacárido y proteína, donde coexisten varias especies de bacterias y levaduras en asociación simbiótica. Si bien su composición varía dependiendo de su país de origen, existe una población relativamente estable que interactúa entre sí, es decir, que tanto el crecimiento como la supervivencia de las cepas individuales, depende de la presencia mutua. Estos microorganismos sintetizan metabolitos bioactivos, que permiten el normal crecimiento del gránulo y la inhibición de microorganismos patógenos y contaminantes(13)(14).

La matriz que alberga los microorganismos es un polisacárido denominado kefirán producido por *L. Kefiranofacies* y *L.kefir*(15). El mismo está conformado

por cantidades iguales de glucosa y galactosa(16) y es una sustancia soluble en agua(15). El kefirán constituye una gran proporción del gránulo de kéfir en sí mismo y también se encuentra disuelto en la fase líquida, donde contribuye a la reología y la textura del producto terminado(17). Además, el kefirán posee propiedades viscoelásticas mejorando las características reológicas de los geles de la leche, aumentando la viscosidad a bajas temperaturas(18), tal es así, que se utiliza como aditivo por la industria en productos fermentados(19).

Microorganismos presentes

Dentro del gránulo se encuentran distintos tipos de levaduras, se han aislado más de 23 especies diferentes(20), entre las más importantes se pueden destacar *Kluyveromyces marxianus* fermentadora de lactosa y otras como por ejemplo *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces unisporus* no fermentadoras de lactosa.

Según un estudio realizado por Man Lu et al, donde se analizaron gránulos de kéfir de leche tibetanos originarios de la zona de Tibet, China, se demostró que las levaduras se encuentran en la superficie externa del gránulo y crecen juntas formando colonias en la comunidad bacteriana. En cuanto a la diversidad de especies en estos gránulos, la variedad más estable es la *Saccharomyces cerevisiae*, especie de levadura adaptada para crecer en ambientes de bajo pH, bajo oxígeno y rico en alcohol, mientras que, *Kluyveromyces marxianus* y *Yarrowia lipolytica* pueden verse afectadas en la fermentación durante el transcurso del tiempo(21)(22).

En la fermentación, las levaduras proporcionan nutrientes como aminoácidos y vitaminas del complejo B, alteran el pH y secretan etanol y CO² (23)(24).

En lo que respecta a las bacterias se puede encontrar una amplia gama, dentro de las más relevantes son: *Lactobacillus paracasei* spp., *paracasei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* spp., *bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum* y *L. kefirifaciens*(25). En su clasificación se pueden diferenciar las homofermentativas, aquellas que fermentan lactosa en ácido láctico, heterofermentativas, bacterias que no necesariamente fermentan lactosa, y las bacterias del ácido acético(26)(27).

La proporción de las distintas especies de bacterias se modifica a lo largo del proceso de fermentación, siendo al principio predominantes las nombradas anteriormente, para el final del proceso el 80% consiste en *Lactobacillus kefirifaciens*(25).

Las bacterias del ácido láctico (LAB) son las encargadas de realizar la conversión de la lactosa en ácido láctico, disminuyendo así el pH, ambiente adecuado para el crecimiento de las levaduras, y favoreciendo la conservación de la leche(28)(29).

Estos microorganismos conviven en una asociación simbiótica donde su supervivencia y crecimiento es de dependencia mutua(13)(30). Las interacciones entre levaduras y bacterias producen la asimilación de ácido láctico, la producción de CO² y eliminación de O² y, por último, la producción de nutrientes. Por un lado, el ácido láctico podría producir un daño en ciertas cepas de LAB, sin embargo, esto no genera conflictos, ya que es asimilado por levaduras que

no consumen lactosa como la *S. cerevisiae*, favoreciendo así, el crecimiento prolongado de las bacterias de ácido láctico. Además, producto de la fermentación de las levaduras se genera dióxido de carbono que favorece el crecimiento de bacterias como la *Lactobacillus spp.* Por último, se ha demostrado que las levaduras producen ciertos nutrientes, como vitaminas del complejo B y aminoácidos, que potencian el crecimiento de bacterias generando así interacciones tróficas e intercambios de metabolitos(31)(32) (33)(34).

Métodos y etapas de producción

La técnica de realización de kéfir puede partir de dos métodos diferentes, el cultivo directo o el cultivo madre (técnica Rusa). Para la producción del cultivo directo se inocula la leche, previamente pasteurizada, con los gránulos en una proporción del 2 al 10% (generalmente 5%) y se deja fermentar durante 24 horas a una temperatura de 20 a 25°C. Luego es filtrado, separando así los gránulos de la leche. Algunos autores añaden un paso de maduración dejando el kéfir reposar a una temperatura entre 8 y 10°C, durante 15 a 20 horas. Por último, se almacena refrigerado a 4°C para ser consumido dentro de los siguientes 7 días (35)(36)(37).

Con respecto al segundo método, se prepara un cultivo madre obtenido a partir de la leche con gránulos de kéfir que luego se tamiza. Este percolado, se utiliza para inocular leche pasteurizada. Al igual que el otro método, se lleva a fermentación, maduración y posterior almacenamiento(38)(39).

El paso de la maduración permite desarrollar un sabor y aroma característico gracias al crecimiento de los microorganismos(40). Otro factor a tener en cuenta es el lavado de los gránulos entre una fermentación y otra, influyendo en el sabor y aumentando el tiempo de fermentación. Además, limita el crecimiento de ciertos microorganismos(13).

Variables a considerar

Una de las variables para prevenir el crecimiento de mohos sobre la superficie, es la agitación, que promueve la distribución uniforme de microorganismos. Además, favorece el desarrollo de microorganismos homofermentativos y levaduras(13)(41)(29).

En cuanto a la temperatura, es necesario controlar que en la fermentación no se superen los 30°C, ya que esto afectaría el crecimiento de levaduras y LAB mesofílicas(41). El aumento de la temperatura da como resultado un pH bajo, inhibiendo el crecimiento de estreptococos y levaduras. Esto también genera un aumento de la viscosidad(38).

La relación inóculo/leche, modifica tanto la viscosidad como el pH del producto final. A mayor concentración, desciende el pH y la viscosidad aumenta. Por otro lado, también se percibe una modificación de la concentración final de lactosa y cambios en el perfil microbiológico, siendo este desfavorable a medida que aumenta la relación(42).

Para el proceso de elaboración del kéfir, es necesario extremar la limpieza de los utensilios y materiales(10). Distintos autores señalan que se debe evitar la utilización de materiales de aluminio, ya que éste podría dejar residuos tóxicos

en medios ácidos. Es preferible el uso de utensilios de plástico, acero inoxidable o fibra vegetal(10). En cuanto al envase, se debe tener en cuenta que la fermentación produce CO² generando hinchazón en el recipiente, es por esto que se prefieren envases de vidrio(13)(43).

Comercialización y conservación

Una vez separados los gránulos del kéfir, posterior fermentación, pueden reutilizarse para iniciar una nueva fermentación o pueden conservarse. Para esto existen distintos métodos: secos, húmedos, congelados, liofilizados o secados por pulverización(14)(44).

El secado se realiza a temperatura ambiente de forma artesanal durante 36 a 48 horas y retienen la actividad durante 12 a 18 meses. Para conservar los gránulos húmedos, se almacenan refrigerados a 4°C en leche y conservan su actividad por 8 a 10 días. En cuanto a la congelación, se puede realizar de forma casera a -20°C, sin embargo utilizando métodos de congelación industrial a temperaturas de -20°C a -80°C se mantiene su microflora y aumenta su masa(45)(46)(47).

Industrialmente existen otros dos métodos, liofilizados o secados por pulverización. El primero, incluye un proceso de secado y mantiene las propiedades sensoriales y la viabilidad de las bacterias(48). El segundo método es el más utilizado por su costo, pero la principal limitación es la pérdida de aroma, sabor y disminución de microorganismos(49)(50).

Hasta la fecha no se ha podido recrear el gránulo a partir de microorganismos puros. Distintos estudios experimentales se han llevado a cabo aislando cepas

de bacterias y levaduras, pero no ha sido posible replicar la simbiosis del gránulo original(13).

Cuadro 1: Técnica de producción del kéfir



Fuente: elaboración propia

Análisis sensorial

El kéfir se caracteriza por una textura cremosa, con un sabor típico a levadura, levemente agrio y con una efervescencia sutil. Teniendo en cuenta que la

sensación en la boca debe ser agradable, un sabor amargo es indicador de que existe un crecimiento inapropiado de hongos (por ejemplo *Geotrichum candidum*) y/o levaduras atípicas. Otra característica sensorial no deseada es un aroma fuerte a levadura o vinagre y es causado por un sobrecrecimiento de la levadura *S. cerevisiae*, un intenso crecimiento de *Acetobacter spp.* o a la presencia de *Dekkera spp.*(2)(24)(51)(29).

Características nutricionales

La composición nutricional del kéfir depende de la leche de la cual se parte. La composición a partir de leche baja en grasa contiene 89-90% de humedad, 0,2% de lípidos, 3,0% de proteínas, 6,0% de azúcar, 0,7% de cenizas, 1,0% de ácido láctico y 0,48% alcohol. Esto depende de la proporción inóculo/leche con la que se realice (52)(40).

IV.II Kéfir de agua

Características generales

Una variante del kéfir de leche es el kéfir de agua, una bebida a base de agua, sacarosa y frutas deshidratadas, inoculada con gránulos de kéfir llamados tísticos. Esta es ácida, afrutada y levemente alcohólica. Nace como una alternativa para aquellas personas que no consumen leche, como veganos, intolerantes a la lactosa o alérgicos a proteínas lácteas. Así, estos consumidores podrían aprovechar el potencial aporte de probióticos otorgados por el kéfir(53).

Composición y microorganismos presentes

Los gránulos utilizados para la fermentación son quebradizos, translúcidos, semejantes a masas gelatinosas compactas de color blanquecino o amarillento, de forma irregular y tamaño variable. Los mismos presentan características diferentes dependiendo del lugar de origen(54)(55).

La microbiota de los tíficos está compuesta por un exopolisacárido insoluble en agua, en donde conviven en simbiosis bacterias ácido lácticas, ácido acéticas y levaduras(56)(57). El crecimiento de bacterias produce una acidificación del medio, permitiendo el crecimiento de levaduras. A su vez, la producción de factores de crecimiento (vitaminas) y compuestos nitrogenados solubles, proveniente de las levaduras, permite el desarrollo de las bacterias, complementándose así ambos microorganismos(58).

Dentro de los microorganismos presentes en el kéfir de agua, las principales bacterias en orden decreciente son *Lactobacillus casei/paracasei*, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus harbinensis*, *Lactobacillus nagelii*, *Acetobacter lovaniensis/fabarum*, y *Lactobacillus hordei/mali*(57). Con respecto a las levaduras, la más predominante es la *S.cerevisiae*(59).

La bacteria *Lactobacillus hilgardii* ha sido identificada como la principal productora del exopolisacárido (60-63). Las bacterias acidolácticas (LAB) producen ácido láctico a partir de hexosas, en su mayoría son aerotolerantes(64) y crecen dentro de un rango de pH de 4 a 4,5(60).

Dentro de las levaduras encontramos, *Hanseniaspora*, *Pichia* y *Lachancea*, las cuales son dominantes en las primeras etapas de fermentación y luego, la

Saccharomyces cerevisiae, es la más predominante(65). La sacarosa estimula su crecimiento, a partir de este sustrato la *S. Cerevisiae* da como resultado glucosa y fructosa(66).

Métodos y etapas de producción

Para la realización de kéfir de agua se inocula agua segura con gránulos (10% m/v), con la adición de sacarosa (10% m/v), frutas deshidratadas como higos, damasco o pasas de uva (60 g en un litro) y limón orgánico en rodajas (70g en un litro). Estos últimos, son utilizados para acidificar el medio, saborizar y aportar minerales. Esto debe ser lentamente agitado para homogenizar la mezcla(39)(67)(57)(68).

La fermentación se realiza a una temperatura entre 25 y 30°C, en un recipiente tapado con tela muselina para permitir el paso de oxígeno. Esto es necesario sobre todo en las primeras horas de fermentación para la proliferación de las LAB(69). Luego de 2 a 4 días de fermentación, se filtran los gránulos que podrán ser reutilizados para repetir el proceso. La bebida fermentada se almacena a 4°C y tiene una duración de hasta 20 días(67).

Según Fiorda et al. se puede adicionar a la fermentación diferentes frutas tales como manzana, frutilla, pera y uvas(70).

En cuanto a la cinética del consumo de sustratos y la producción de metabolitos, durante el proceso de fermentación, la sacarosa se consumió completamente después de las primeras 24hs. Esto coincidió con la producción del exopolisacárido del gránulo de kéfir de agua. El consumo de sacarosa dio lugar

al aumento de las concentraciones de fructosa. Esto contrastó con la de glucosa que disminuyó continuamente durante la misma(57)(71).

En las primeras 72hs de la fermentación, el pH disminuyó de 4,26 a 3,45 lo que coincidió con la producción de los principales metabolitos que son etanol y ácido láctico. En menor medida, se produce también manitol, ácido acético y glicerol. Este último, brinda viscosidad a la bebida pero no influye directamente en el sabor y aroma (57)(72)(70).

Respecto a los metabolitos finales mencionados, el etanol, el dióxido de carbono, el glicerol y los compuestos aromáticos (ésteres acetato de isoamilo, hexanoato de etilo, octanoato de etilo y decanoato de etilo) fueron originados por las levaduras. Por otro lado, el ácido láctico fue producido por las bifidobacterias y LAB. Estas últimas, también generaron manitol y ácido acético junto con las levaduras, bifidobacterias y AAB(57)(73).

Variables a considerar

El control de las condiciones del proceso, es crucial para la garantía de seguridad del producto final. Si bien la simbiosis que existe entre levaduras y bacterias asegura un producto libre de microorganismos patógenos, hay factores que pueden alterar la microbiota de los gránulos y su calidad(71). El lavado excesivo de los gránulos y la inadecuada manipulación, son algunos de estos ejemplos(74)(75). Por otro lado, una baja proporción de inóculo o altas concentraciones de sacarosa, pueden estimular a las bacterias patógenas a competir con microbios presentes en los gránulos(76).

Formas de producción y comercialización

Actualmente el kéfir de agua se produce principalmente a nivel casero. La masa de los gránulos tiene la característica de crecer en cantidad en cada fermentación y esto permite que se done el excedente de gránulos de persona a persona. Además, al igual que los gránulos de leche, pueden conseguirse liofilizados(53).

A nivel comercial, la elaboración de kéfir de agua, presenta dificultades en la estandarización del producto final, dado que no se puede controlar la cantidad y tipo de microorganismos en cada lote(67)(75)(53).

Otra de las dificultades que se observó, partiendo de gránulos congelados, fue la inestabilidad de los microorganismos y el bajo crecimiento de los gránulos(73). Se evidenció que luego del congelamiento y descongelamiento de los mismos, la estructura se dañó de forma irreversible(77). Este daño causó en los microorganismos un menor consumo de sustrato, dando como consecuencia un producto pobre en microorganismos y calidad sensorial, en comparación a la producción casera(73).

En cuanto al almacenamiento de los gránulos, se evidenció que la técnica más adecuada y viable a nivel industrial es la liofilizada(77).

Cuadro 2: Técnica de elaboración del kéfir de agua

	<p>1. Origen de los gránulos de kéfir de agua</p> <ul style="list-style-type: none"> • Los microorganismos presentes en los gránulos dependen del país y lugar de origen.
	<p>2. Proporción gránulos/agua</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se inocula agua segura con gránulos (10% m/v) con la adición de sacarosa (10% m/v), frutas deshidratadas y limón.
	<p>3. Tiempo de fermentación</p> <ul style="list-style-type: none"> • El kéfir se obtiene luego de las 2-4 días de fermentación. • Después de las primeras 24 hs, la sacarosa se consume completamente lo que coincide con la producción del exopolisacárido. • En las primeras 72 hs de fermentación el pH disminuye, lo que genera los principales metabolitos.
	<p>4. Temperatura de fermentación</p> <ul style="list-style-type: none"> • La fermentación se realiza a una temperatura de 25-30°C, en un recipiente tapado con tela muselina.
	<p>5. Producto final: kéfir de agua</p> <ul style="list-style-type: none"> • Exopolisacáridos. • Microorganismos con función probiótica. • Baja concentración de azúcar. • Bajo contenido de alcohol que no supera el 2% v/v.
	<p>5. Producto final: los gránulos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Luego del filtrado, se reutilizan para un nuevo ciclo.

Fuente: elaboración propia

Análisis Sensorial

El kéfir de agua se caracteriza por ser una bebida espumosa, ligeramente dulce, levemente ácida, debido a la presencia de ácido láctico y acético y coloreada, dependiendo de la fruta elegida para su elaboración(70)(58).

La presencia de la *S.cerevisiae* mejora la calidad sensorial promoviendo un aroma fuerte, refrescante, picante y típico a levadura(58).

Dentro de los metabolitos finales, el etanol aporta a la bebida un flavor refrescante, los ésteres un aroma frutal y el glicerol cuerpo y textura(78)(79).

Características nutricionales

Según un estudio realizado por Monar et al. el recuento de bacterias ácido lácticas fueron superiores a la mínima requerida para que un alimento sea considerado probiótico, siendo este valor de 10^6 ufc/ml. Por otro lado, el recuento de levaduras fue menor de lo recomendado para alimentos probióticos (10^{10} ufc/ml)(80)(81)(82).

En cuanto al contenido nutricional, la bebida posee baja concentración de azúcar y un contenido de alcohol que no supera el 2% (v/v)(58)(71).

IV.III Beneficios

En cuanto a los beneficios nutricionales del kéfir de leche, el aporte de proteínas, dada por la hidrólisis bacteriana, suele encontrarse en péptidos y aminoácidos, mejorando así su biodisponibilidad. Además, gracias a la acidez del medio se forman sales parcialmente solubles con minerales como hierro, cobre y zinc, facilitando así su absorción(83)(84).

Se ha demostrado que el kéfir mejora la digestión de la lactosa al igual que el yogur natural. Esto se da a partir de una alta concentración de β -galactosidasa

encargada de hidrolizar la lactosa. En un ensayo controlado se le administró esta bebida fermentada a adultos con intolerancia y se demostró un grado de flatulencia significativamente menor en comparación con la leche, lo que supone mejor tolerancia (13)(39)(52)(85).

Otro efecto benéfico del kéfir, es prevenir la diarrea y enterocolitis inhibiendo el crecimiento de microorganismos patógenos, por ejemplo la *Shigella sonnei* y *Clostridium Difficile*(86). Además la producción de ácidos orgánicos, péptidos (bacteriocinas), dióxido de carbono, peróxido de hidrógeno, etanol y diacetilo, son considerados potencialmente antimicrobianos, tanto en la protección contra patógenos transmitidos por alimentos como por el tratamiento y prevención de la gastroenteritis(39)(52).

También se ha comprobado la eficiente erradicación de la bacteria *H. pylori*, siendo utilizado como terapia alternativa durante el tratamiento de infecciones(87).

El consumo de esta bebida fermentada aumentó el recuento de LAB en la mucosa intestinal y redujo las poblaciones de enterobacterias y clostridia, según el estudio de Marquina et al. (88). Sumado a esto, se ha demostrado su eficacia en tratamientos postoperatorios y en pacientes con trastornos gastrointestinales(52).

Como se señaló anteriormente, el kéfir es una bebida que está tomando relevancia para la investigación científica en los últimos años, por lo tanto diversos beneficios como su efecto hipocolesterolémico, la estimulación del sistema inmune, efectos anticarcinogénicos, antihipertensivos, antioxidantes, de

actividad antiinflamatoria y curativa si bien han dado resultados positivos en estudios en ratones y estudios in vitro, no hay evidencia hasta el momento de su beneficio en humanos (16)(52)(89)(90)(91)(92)(93)(94).

En cuanto al kéfir de agua, se ha demostrado el efecto probiótico de algunos de los microorganismos presentes en su composición como ser algunas cepas de *Lb. casei*(95) y *Bifidobacterium Spp.*(57). Se encuentra en estudio el potencial efecto probiótico de *S. cerevisiae* y *S.bulgardii*(96)(97).

Ambos tipos de bebidas probióticas, el kéfir y el kéfir de agua, tienen en común la presencia tanto de bacterias como de levaduras que les brindarán sus características únicas y por lo tanto, su variabilidad final. A continuación, se presentan los cuadros 3 y 4 que detallan las diferencias entre bacterias y levaduras de ambas bebidas.

Cuadro 3: Comparación de bacterias entre kéfir y kéfir de agua

GRUPOS DE MICROORGANISMOS	GÉNERO	KÉFIR DE LECHE	KÉFIR DE AGUA	REFERENCIAS
BACTERIAS	<i>Lactobacillus</i>	<i>L. Kefiranofaciens,</i> <i>L.Kefir ,</i> <i>L.Kefiri</i> <i>L. Paracasei ssp. paracasei,</i> <i>L.acidophilus,</i> <i>L.delbrueckii ssp. bulgaricus ,</i> <i>L.Plantarum ,</i> <i>L. kefiranofaciens</i> <i>Lactobscillus spp</i>	<i>L.Casei /Paracasei, L. Hilgardii</i> <i>L. Harbinensis,</i> <i>L. Nagelii ,</i> <i>L. Hordei /mali</i>	Toba et al (1987) Laureys et al. (2014) Lutz et al (1899) Pidoux et al (1989) Pidoux et al (1990) Waldherr et al (2010) Leroi et al (1993) Yuksekdag et al (2004) Magalhaes et al (2011)
	<i>Estreptococos</i>	<i>No especifica</i>		Wszolek M et al (2006)
	<i>Acinetobater</i>	<i>Acetobacter spp</i>	<i>Acetobacter lovaniensis/fabarum</i>	Dimidi et al (2019) Lopitz-Otsoa et al (2006) Oner et al (2009) Wszolek M et al (2006)
	<i>Bifidobacterias</i>		<i>No especifica</i>	Laureys et al (2014) Laureys et al (2017)

Fuente: elaboración propia

Referencias: **microorganismos contaminantes**, **bibliografía kéfir de agua**, **bibliografía kéfir**.

Cuadro 4: Comparación de levaduras entre kéfir y kéfir de agua

GRUPOS DE MICROORGANISMOS	GÉNERO	KÉFIR DE LECHE	KÉFIR DE AGUA	REFERENCIAS
LEVADURAS	<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Witthunn et al (2005) Lu et al (2014) Uetz et al (2000) Katakura et al (2010) Tada et al (2007) Suharja et al (2014) Ponomorova et al (2017)
		<i>S. unisporus</i>		Laureys et al (2016) Morrissey et al (2004) Laureys et al (2014) Magalhaes et al (2010) Laureys et al (2017)
	<i>Kluyveromyces</i>	<i>K. marxianus</i>		Witthunn et al (2005) Lu et al (2014) Uetz et al (2000)
	<i>Candida</i>	<i>Geotrichum candidum</i>		Dimidi et al (2019) Lopitz-Otsoa et al (2006) Oner et al (2009) Wszolek M et al (2006)
Otras especies		<i>Yarrowia lipolytica</i>	<i>Hanseniaspora, Pichia y Lachancea</i>	Witthunn et al (2005) Lu et al (2014) Morrissey et al (2004)
		<i>Dekkera spp</i>		Wszolek M et al (2006)

Fuente: elaboración propia

Referencias: **microrganismos contaminantes**, **bibliografía kéfir de agua**, **bibliografía kéfir**.

V. DISCUSIÓN

Actualmente el consumo tanto de kéfir, como de kéfir de agua se encuentra en auge, ya que el mismo está asociado a potenciales beneficios para la salud (7)(13)(39)(52)(57)(85)(95). Debido a esto, se realizó una búsqueda bibliográfica sobre el proceso de producción y manipulación de los gránulos de kéfir y los beneficios del consumo de la bebida.

Según los trabajos consultados hasta el momento, no sería posible estandarizar las propiedades de la bebida, dado que existen varios factores que contribuyen a estas diferencias.

Se ha demostrado, en primer lugar, que los microorganismos que conforman el gránulo varían según la región y país de origen. Si bien ciertas cepas son estables, existen otras que difieren otorgando gran variabilidad al producto final (13) (14). En segundo lugar, el tipo y la proporción de las materias primas utilizadas como leche, agua, sacarosa o fruta deshidratada van a aportar diferentes cualidades. También se debe tener en cuenta que durante el proceso de fermentación, la temperatura, el pH, la agitación, la proporción inóculo/líquido y el tiempo van a influir sobre las mismas (38)(41)(42)(74)(75)(76).

En relación a lo expuesto, la bebida kéfir posee un ecosistema variable, siendo éste responsable de los atributos sensoriales como sabor, aroma, efervescencia y de sus beneficios en la salud (24)(39)(40)(51)(67).

Cuando sus características sensoriales difieren de lo esperado, se desaconseja su ingesta(29)(51).

Para garantizar un producto apto para el consumo, se requiere de BPM (buenas prácticas de manufactura), teniendo especial cuidado en la higiene.

En cuanto a la recopilación de datos, se encontró un desbalance en la cantidad de material bibliográfico disponible entre el kéfir y kéfir de agua, siendo el primero el más investigado. Sin embargo, aunque escasee la información científica, actualmente la producción casera de kéfir de agua es la más difundida y aceptada.

Con respecto a la industrialización del kéfir de agua, los intentos por lograr una bebida estandarizada para ser comercializada no han tenido éxito, dado que los procesos de fermentación son inestables, causando que el gránulo pierda vigorosidad. Por lo tanto, se requiere de estudios adicionales para obtener una mejor comprensión acerca de todo el proceso, permitiendo la preparación de lotes más estables(53)(67)(75).

Los efectos beneficiosos de la bebida son atribuidos a los componentes generados en la fermentación, específicamente las LAB y bifidobacterias, las cuales son consideradas probióticos(53)(57)(80)(81)(95). Al consumo de esta bebida fermentada se le asocia una gran variedad de efectos benéficos para la salud, algunos de estos fueron estudiados únicamente en animales o in vitro, por lo tanto, se deberán realizar más estudios en humanos para validar su efectividad(89)(90)(91)(92).

Este trabajo de investigación aporta una recopilación de lo estudiado hasta el momento sobre la técnica de elaboración de kéfir, remarcando la importancia de

las variables antes mencionadas. Considerando, que el consumo de esta bebida está tomando relevancia, resulta importante continuar su investigación.

VI. CONCLUSIONES

Para la técnica de elaboración del kéfir es importante considerar las variables del proceso, respetando las etapas y proporciones adecuadas.

En cuanto a la producción de kéfir de leche existen dos técnicas, por cultivo directo o técnica rusa, estas difieren en la inoculación inicial, pero luego cumplen similares procesos. El rango de temperatura en cada etapa es fundamental para establecer un pH adecuado, generando así una óptima proliferación de microorganismos.

En la producción de kéfir de agua existe menor bibliografía disponible. Según los estudios recopilados, la producción industrial posee cualidades inferiores en comparación a la técnica casera.

En ambas bebidas la concentración de los microorganismos presentes son responsables del potencial efecto probiótico, sin embargo, no siempre se puede garantizar la presencia de los mismos. Si bien se han demostrado determinados beneficios para la salud, es necesario realizar más estudios en seres humanos para determinar su eficacia.

Por último, destacar que se encuentra gran cantidad de información empírica disponible, no obstante estos conocimientos no están basados en estudios científicos que los respalden. Por lo tanto, se espera que estos interrogantes sean un incentivo y motiven futuras investigaciones sobre el proceso de elaboración del kéfir.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar queremos agradecer a la Universidad Pública por brindarnos las herramientas y los conocimientos para formarnos no sólo profesionalmente si no también como ciudadanos empáticos y con conciencia social. Con especial mención a nuestra Universidad de Buenos Aires y La Escuela de Nutrición de la que fuimos parte todos estos años, la cual defendemos con orgullo y nos ha brindado de los mejores profesores y enseñanzas.

A nuestras tutoras Cecilia Drolas y Maria Celina Alfageme por guiarnos y acompañarnos siempre con buena predisposición y darnos el apoyo necesario en este contexto actual tan particular.

Por último, una especial mención a nuestro sostén diario que nos permitió llegar a este lugar, que son nuestras familias, parejas y amigos. Estos seres tan especiales supieron darnos la paciencia, amor y contención constante durante todos estos años.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Marco ML, Heeney D, Binda S, Cifelli CJ, Cotter PD, Foligné B, et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Curr Opin Biotechnol*. 2017;44:94-102.
2. Dimidi E, Cox SR, Rossi M, Whelan K. Fermented Foods: Definitions and Characteristics, Impact on the Gut Microbiota and Effects on Gastrointestinal Health and Disease. *Nutrients*. agosto de 2019;11(8):1806.
3. Ebner S, Smug LN, Kneifel W, Salminen SJ, Sanders ME. Probiotics in dietary guidelines and clinical recommendations outside the European Union. *World J Gastroenterol WJG*. 21 de noviembre de 2014;20(43):16095-100.
4. Chilton SN, Burton JP, Reid G. Inclusion of fermented foods in food guides around the world. *Nutrients*. 8 de enero de 2015;7(1):390-404.
5. Savaiano DA. Lactose digestion from yogurt: mechanism and relevance. *Am J Clin Nutr*. mayo de 2014;99(5 Suppl):1251S-5S.
6. Walsh AM, Crispie F, Kilcawley K, O'Sullivan O, O'Sullivan MG, Claesson MJ, et al. Microbial Succession and Flavor Production in the Fermented Dairy Beverage Kefir. *mSystems*. octubre de 2016;1(5).
7. Gille D, Schmid A, Walther B, Vergères G. Fermented Food and Non-Communicable Chronic Diseases: A Review. *Nutrients*. abril de 2018;10(4):448.
8. Guarner Francisco, Sanders Mary Ellen, Eliakim Ram. Probiotics and prebiotics.pdf [Internet]. Guías Mundiales de la Organización Mundial de Gastroenterología. Febrero 2017. [citado 2 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-and-prebiotics-spanish-2017.pdf>
9. Williams NT. Probiotics. *Am J Health-Syst Pharm AJHP Off J Am Soc Health-Syst Pharm*. 15 de marzo de 2010;67(6):449-58.
10. Blasco Mercedes. Cómo cura el kéfir - Google Libros [Internet]. primera edición. RBA Libros. Barcelona. Junio 2012 [citado 2 de noviembre de 2020].

Disponible en:

https://books.google.com.ar/books/about/C%C3%B3mo_cura_el_k%C3%A9fir.html?id=xljRDwAAQBAJ&printsec=frontcover&source=kp_read_button&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false

11. Arslan S. A review: chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir. *CyTA - J Food*. 3 de julio de 2015;13(3):340-5.
12. WHO World Health Organization & FAO Food and Agriculture Organization of the United Nations -Roma - 2011 - Milk and milk products.pdf [Internet]. [citado 2 de noviembre de 2020]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i2085e/i2085e00.pdf>
13. Farnworth ER (Ted). *Handbook of Fermented Functional Foods*. CRC Press; 2003. 408 p.
14. Garrote GL, Abraham AG, Antoni GLD. Microbial Interactions in Kefir: A Natural Probiotic Drink. En: *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria* [Internet]. John Wiley & Sons, Ltd; 2010 [citado 2 de noviembre de 2020]. p. 327-40. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780813820866.ch18>
15. Toba, T., Arihara, K., Adachi, S. Comparative study of polysaccharides from kefir grains, an encapsulated homofermentative *Lactobacillus* species and *Lactobacillus kefir*. *Milchwiss* 42 565- 568. 1987;
16. Rodrigues KL, Caputo LRG, Carvalho JCT, Evangelista J, Schneedorf JM. Antimicrobial and healing activity of kefir and kefir extract. *Int J Antimicrob Agents*. mayo de 2005;25(5):404-8.
17. la Rivière JWM, Kooiman P, Schmidt K. Kefiran, a novel polysaccharide produced in the kefir grain by *Lactobacillus brevis*. *Arch Für Mikrobiol*. 1 de marzo de 1967;59(1):269-78.
18. Rimada PS, Abraham AG. Kefiran improves rheological properties of glucono- δ -lactone induced skim milk gels. *Int Dairy J*. 1 de enero de 2006;16(1):33-9.
19. Zajšek K, Goršek A, Kolar M. Cultivating conditions effects on kefir

production by the mixed culture of lactic acid bacteria imbedded within kefir grains. *Food Chem.* 15 de agosto de 2013;139(1-4):970-7.

20. Witthuhn RC, Schoeman T, Britz TJ. Characterisation of the microbial population at different stages of Kefir production and Kefir grain mass cultivation. *Int Dairy J.* 1 de abril de 2005;15(4):383-9.

21. Lu M, Wang X, Sun G, Qin B, Xiao J, Yan S, et al. (2014) Fine Structure of Tibetan Kefir Grains and Their Yeast Distribution, Diversity, and Shift. *PLoS ONE* 9(6): e101387. Disponible en: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101387>

22. Uetz P, Giot L, Cagney G, Mansfield TA, Judson RS, Knight JR, et al. A comprehensive analysis of protein–protein interactions in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nature.* febrero de 2000;403(6770):623-7.

23. Farnworth, ER. Kéfir un probiótico complejo. *Bol Cienc Tecnol Los Aliment Aliment Funcionales.* 2005;2, 1-17.

24. Lopitz-Otsoa F, Rementeria A, Elguezabal N, Garaizar J. Kefir: a symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. *Rev Iberoam Micol.* junio de 2006;23(2):67-74.

25. Yükksekdağ ZN, Beyatli Y, Aslim B. Determination of some characteristics coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefir with natural probiotic. *LWT - Food Sci Technol.* 1 de septiembre de 2004;37(6):663-7.

26. Angulo L, Lopez E, Lema C. Microflora present in kefir grains of the Galician region (North-West of Spain). *J Dairy Res.* mayo de 1993;60(2):263-7.

27. Toba T (Tohoku U. Fermented milks produced with mesophilic lactic acid bacteria: Kefir and Scandinavian ropy sour milk. En: *Japanese Journal of Dairy and Food Science (Japan)* [Internet]. 1987 [citado 3 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=JP9000447>

28. Karina Teixeira Magalhães, Gilberto Vinícius de Melo Pereira, Cássia Roberta Campos, Giuliano Dragone, RosaneFreitas Schwan. Brazilian kefir: structure, microbial communities and chemical composition. *Brazilian Journal of*

Microbiology (2011) 42: 693-702 Disponible en:
<https://www.scielo.br/pdf/bjm/v42n2/34.pdf>

29. Wszolek M, Teahan B, Guldager H, Tamime AY. Production of Kefir, Koumiss and other Related Products. En: Fermented Milks. 2007. p. 174-216.
30. Han X, Zhang L-J, Wu H-Y, Wu Y-F, Zhao S-N. Investigation of microorganisms involved in kefir biofilm formation. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 1 de diciembre de 2018;111(12):2361-70.
31. Katakura Y, Sano R, Hashimoto T, Ninomiya K, Shioya S. Lactic Acid Bacteria Display on the Cell Surface Cytosolic Proteins that Recognize Yeast Mannan. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1 de noviembre de 2009;86:319-26.
32. Tada S, Katakura Y, Ninomiya K, Shioya S. Fed-batch coculture of *Lactobacillus kefirianofaciens* with *Saccharomyces cerevisiae* for effective production of kefiran. *J Biosci Bioeng*. 1 de junio de 2007;103(6):557-62.
33. Suharja AAS, Henriksson A, Liu S-Q. Impact of *Saccharomyces Cerevisiae* on Viability of Probiotic *Lactobacillus Rhamnosus* in Fermented Milk under Ambient Conditions. *J Food Process Preserv*. 2014;38(1):326-37.
34. Ponomarova O, Gabrielli N, Sévin DC, Mülleder M, Zirngibl K, Bulyha K, et al. Yeast Creates a Niche for Symbiotic Lactic Acid Bacteria through Nitrogen Overflow. *Cell Syst*. 25 de octubre de 2017;5(4):345-357.e6.
35. California Code : Food and Agricultural Code - FAC :: DIVISION 15 - MILK AND MILK PRODUCTS ACT OF 1947 :: PART 3 - MANUFACTURED PRODUCTS :: CHAPTER 5 - Miscellaneous Dairy Products :: ARTICLE 36 - 2016- Kefir Milk A Cultured Milk [Internet]. *Justia Law*. [citado 3 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://law.justia.com/codes/california/2016/code-fac/division-15/part-3/chapter-5/article-36/>
36. Gawel, J., Gromadka, M. Changements chimiques au cours de la fermentation et de la maturation du kéfir. *Dairy Cong Brief Comm*. 1978;Vol. E. 850.
37. N.s K. Technology of kefir and kumys. *Bull Int Dairy Fed Belg Fed Int Lait*

No 227 [Internet]. 1988 [citado 3 de noviembre de 2020]; Disponible en: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BE19890031505>

38. Libudzisz Z, Piatkiewicz A. Kefir production in Poland. Dairy Ind Int. 1990;55(7):31-3.
39. Otles S, Çağındı Ö. Kefir: A Probiotic Dairy-Composition, Nutritional and Therapeutic Aspects. Pak J Nutr. 1 de febrero de 2003;2.
40. Beshkova DM, Simova ED, Simov ZI, Frengova GI, Spasov ZN. Pure cultures for making kefir. Food Microbiol. 1 de octubre de 2002;19(5):537-44.
41. Rattray FP, O'Connell MJ. Fermented Milks | Kefir. En: Encyclopedia of Dairy Sciences. 2011. p. 518-24.
42. Garrote GL, Abraham AG, Antoni GLD. Characteristics of kefir prepared with different grain[ratio]milk ratios. J Dairy Res. febrero de 1998;65(1):149-54.
43. Sarkar S. Biotechnological innovations in kefir production: A review. Br Food J. 21 de marzo de 2008;110:283-95.
44. Teijeiro M, Pérez PF, De Antoni GL, Golowczyc MA. Suitability of kefir powder production using spray drying. Food Res Int. octubre de 2018;112:169-74.
45. Garrote GL, Abraham AG, De Antoni GL. Preservation of Kefir Grains, a Comparative Study. LWT - Food Sci Technol. febrero de 1997;30(1):77-84.
46. Kosikowski FV, Vikram V Mistry. Cheese and Fermented Milk Foods. Vol 2. 3rd ed. 1999 Westport, Conn.
47. Marth, E. and Yousef, A.E. (1991) Fungi and dairy products. Handbook of Applied Mycology, Vol. 3. Ed. D.K. Arora, K.G. Mukerji, and E.H. Marth. New York: Marcel Dekker.
48. Atalar I, Dervisoglu M. Optimization of spray drying process parameters for kefir powder using response surface methodology. LWT - Food Sci Technol. 1 de marzo de 2015;60(2, Part 1):751-7.

49. Bolla Patricia, Serradell Maria de los Angeles, de Urraza Patricio. Effect of freeze-drying on viability and in vitro probiotic properties of a mixture of lactic acid bacteria and yeasts isolated from kefir [Internet]. J Dairy Res. Febrero 2011. 78(1):15-22. [citado 3 de noviembre de 2020]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/46169300_Effect_of_freeze-drying_on_viability_and_in_vitro_probiotic_properties_of_a_mixture_of_lactic_acid_bacteria_and_yeasts_isolated_from_kefir
50. Broeckx G, Vandenheuvel D, Claes I, Lebeer S, Kiekens F. Drying techniques of probiotic bacteria as an important step towards the development of novel pharmabiotics. Int J Pharm. 2 de abril de 2016;505.
51. Oner Zubeyde, Karahan Aynur. Effects of different milk types and starter cultures on kefir [Internet].GIDA. Enero 2010 35 (3): 177-182 [citado 3 de noviembre de 2020]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/242098531_Effects_of_different_milk_types_and_starter_cultures_on_kefir
52. Sarkar, S. Potencial del kéfir como bebida dietética: una revisión. Br J Nutr. 2007;(109):280-90.
53. Schneedorf JM. Kefir D'Aqua and Its Probiotic Properties. Probiotic Anim [Internet]. 3 de octubre de 2012 [citado 3 de noviembre de 2020]; Disponible en: <https://www.intechopen.com/books/probiotic-in-animals/kefir-d-aqua-and-its-probiotic-properties>
54. Horisberger M. Structure of the dextran of the Tibi grain. Carbohydr Res. 1 de julio de 1969;10(3):379-85.
55. Rubio MT, Lappe P, Wachter C, Ulloa M. Estudio microbiano y químico de la fermentación de soluciones de piloncillo inoculados con tibicos. Rev Latinoam Microbiol. 1993;35(1):19-31.
56. Moinas M, Horisberger M, Bauer H. The structural organization of the Tibi grain as revealed by light, scanning and transmission microscopy. Arch Microbiol. 1 de diciembre de 1980;128(2):157-61.

57. Laureys D, De Vuyst L. Microbial Species Diversity, Community Dynamics, and Metabolite Kinetics of Water Kefir Fermentation. Griffiths MW, editor. Appl Environ Microbiol. 15 de abril de 2014;80(8):2564-72.
58. Magalhães KT, de M. Pereira GV, Dias DR, Schwan RF. Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir. World J Microbiol Biotechnol. julio de 2010;26(7):1241-50.
59. Laureys D, De Vuyst L. The water kefir grain inoculum determines the characteristics of the resulting water kefir fermentation process. J Appl Microbiol. marzo de 2017;122(3):719-32.
60. Pidoux M. The microbial flora of sugary kefir grain (the gingerbeer plant): biosynthesis of the grain from *Lactobacillus hilgardii* producing a polysaccharide gel. MIRCEN J Appl Microbiol Biotechnol. 1 de junio de 1989;5(2):223-38.
61. Pidoux M, De Ruyter GA, Brooker BE, Colquhoun IJ, Morris VJ. Microscopic and chemical studies of a gelling polysaccharide from *Lactobacillus hilgardii*. Carbohydr Polym. 1 de enero de 1990;13(4):351-62.
62. Waldherr FW, Doll VM, Meißner D, Vogel RF. Identification and characterization of a glucan-producing enzyme from *Lactobacillus hilgardii* TMW 1.828 involved in granule formation of water kefir. Food Microbiol. 1 de agosto de 2010;27(5):672-8.
63. Leroi F, Pidoux M. Characterization of interactions between *Lactobacillus hilgardii* and *Saccharomyces florentinus* isolated from sugary kefir grains. J Appl Bacteriol. 1993;74(1):54-60.
64. Lutz L. Recherches biologiques sur la constitution du Tibi. éditeur non identifié; 1899. book.
65. Morrissey WF, Davenport B, Querol A, Dobson ADW. The role of indigenous yeasts in traditional Irish cider fermentations. J Appl Microbiol. 2004;97(3):647-55.
66. Ikram-ul-haq, Ali S. Kinetics of invertase production by *Saccharomyces cerevisiae* in Batch culture [Internet]. Pakistan Journal of Botany 39(3):907-912

[citado 3 de noviembre de 2020]. Disponible en: /paper/Kinetics-of-invertase-production-by-Saccharomyces-Ikram-ul-haq-Ali/1aca8433ec77014113ad350fbb97cac30926457

67. Yildiz F, editor. Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products. Boca Raton, FL: CRC Press/Taylor & Francis; 2010. 435 p.
68. Fels L, Jakob F, Vogel RF, Wefers D. Structural characterization of the exopolysaccharides from water kefir. *Carbohydr Polym.* 1 de junio de 2018;189:296-303.
69. Laureys D, Aerts M, Vandamme P, De Vuyst L. Oxygen and diverse nutrients influence the water kefir fermentation process. *Food Microbiol.* agosto de 2018;73:351-61.
70. Fiorda FA, de Melo Pereira GV, Thomaz-Soccol V, Rakshit SK, Pagnoncelli MGB, Vandenberghe LP de S, et al. Microbiological, biochemical, and functional aspects of sugary kefir fermentation - A review. *Food Microbiol.* septiembre de 2017;66:86-95.
71. Gulitz A, Stadie J, Wenning M, Ehrmann MA, Vogel RF. The microbial diversity of water kefir. *Int J Food Microbiol.* diciembre de 2011;151(3):284-8.
72. Guerra MJ, Mujica MV. Physical and chemical properties of granulated cane sugar «panelas». *Food Sci Technol.* marzo de 2010;30(1):250-7.
73. Laureys D, Van Jean A, Dumont J, De Vuyst L. Investigation of the instability and low water kefir grain growth during an industrial water kefir fermentation process. *Appl Microbiol Biotechnol.* abril de 2017;101(7):2811-9.
74. Koutinas A, Athanasiadis I, Bekatorou A, Iconomopoulou M, Blekas G. Kefir yeast technology: Scale-up in SCP production using milk whey. *Biotechnol Bioeng.* 30 de marzo de 2005;89:788-96.
75. Cetinkaya F, Elal Mus T. Determination of microbiological and chemical characteristics of kefir consumed in Bursa. *Ank Univ Vet Fak Derg.* 1 de enero de 2012;59.

76. Hui YH, Culbertson JD. Handbook of Food Science, Technology, and Engineering. CRC Press; 2006. 900 p.
77. Gulitz A, Stadie J, Ehrmann MA, Ludwig W, Vogel RF. Comparative phylobiomic analysis of the bacterial community of water kefir by 16S rRNA gene amplicon sequencing and ARDRA analysis. J Appl Microbiol. abril de 2013;114(4):1082-91.
78. Puerari C, Magalhães KT, Schwan RF. New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. Food Res Int. 1 de octubre de 2012;48(2):634-40.
79. Fiorda FA, de Melo Pereira GV, Thomaz-Soccol V, Medeiros AP, Rakshit SK, Soccol CR. Development of kefir-based probiotic beverages with DNA protection and antioxidant activities using soybean hydrolyzed extract, colostrum and honey. LWT - Food Sci Technol. 1 de mayo de 2016;68:690-7.
80. Y. Sanz, M.C. Collado, J. Dalmau. Probióticos: criterios de Probióticos: criterios de calidad y orientaciones calidad y orientaciones para el consumo para el consumo. Acta pediátrica española. Vol. 61.nº9, 2003 [citado 3 de noviembre de 2020]; Disponible en: https://www.academia.edu/29240520/Probi%C3%B3ticos_criterios_de_Probi%C3%B3ticos_criterios_de_calidad_y_orientaciones_calidad_y_orientaciones_para_el_consumo_para_el_consumo
81. Olagnero G, Abad A, Bendersky S, Genevois C, Granzella L, Montonati M. Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. :14.
82. Monar M, Dávalos I, Zapata S, Caviedes M, Ramírez-Cárdenas L. Caracterización química y microbiológica del kéfir de agua artesanal de origen ecuatoriano. ACI Av En Cienc E Ing [Internet]. 13 de junio de 2014 [citado 3 de noviembre de 2020];6(1). Disponible en: <https://revistas.usfq.edu.ec/index.php/avances/article/view/160>
83. Baró L, Lara F, Corral E. Composición y calidad nutritiva de los alimentos . Lácteos y derivados lácteos. 2a ed. Vol. Tomo II. Madrid: Médica Panamericana; 2010.

84. Mataix J, Rivas J. Lácteos y derivados. Nutrientes y alimentos. 1.^a ed. Vol. 1. Madrid: Ergon; 2009.
85. Hertzler SR, Clancy SM. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *J Am Diet Assoc.* 1 de mayo de 2003;103(5):582-7.
86. Bolla PA, Carasi P, Bolla M de los A, De Antoni GL, Serradell M de los A. Protective effect of a mixture of kefir-isolated lactic acid bacteria and yeasts in a hamster model of *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe.* junio de 2013;21:28-33.
87. Onder Bekar, Yusuf Yilmaz. Kefir Improves the Efficacy and Tolerability of Triple Therapy in Eradicating *Helicobacter pylori* | *Journal of Medicinal Food* [Internet]. [citado 3 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/jmf.2010.0099>
88. Marquina D, Santos A, Corpas I, Muñoz J, Zazo J, Peinado JM. Dietary influence of kefir on microbial activities in the mouse bowel. *Lett Appl Microbiol.* 2002;35(2):136-40.
89. Nathalie Khoury Stephany El-Hayek Omayr Tarras Marwan El-Sabban Mirvat El-Sibai. Kefir exhibits anti-proliferative and pro-apoptotic effects on colon adenocarcinoma cells with no significant effects on cell migration and invasion [Internet]. *International Journal of Oncology.* Septiembre 2014. 45, 2117-2127. [citado 3 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijo.2014.2635?text=fulltext>
90. Effect of Kefir on the Oxidative Stress Due to Lead in Rats: *Journal of Applied Animal Research: Vol 35, No 1* [Internet]. [citado 3 de noviembre de 2020]. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09712119.2009.9706992>
91. Je-Ruei Liu, Sheng-Yao Wang, Ming-Ju Chen, Hsiao-Ling Che, Pei-Ying Yueh Hypocholesterolaemic effects of milk-kefir and soyamilk-kefir in cholesterol-fed hamsters | *British Journal of Nutrition* | Cambridge Core. Marzo 2007 [Internet]. [citado 3 de noviembre de 2020]. Disponible en: 348

- <https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/hypocholesterolaemic-effects-of-milkkefir-and-soyamilkkefir-in-cholesterol-fed-hamsters/AAC8356CBE984119C3D7EA9337146C0A>
92. Hadisaputro S, Djokomoeljanto RRJ, Judiono null, Soesatyo MHNE. The effects of oral plain kefir supplementation on proinflammatory cytokine properties of the hyperglycemia Wistar rats induced by streptozotocin. *Acta Medica Indones.* abril de 2012;44(2):100-4.
93. Quirós A, Hernández-Ledesma B, Ramos M, Amigo L, Recio I. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitory Activity of Peptides Derived from Caprine Kefir. *J Dairy Sci.* 1 de octubre de 2005;88(10):3480-7.
94. Wang Y, Xu N, Xi A, Ahmed Z, Zhang B, Bai X. Effects of *Lactobacillus plantarum* MA2 isolated from Tibet kefir on lipid metabolism and intestinal microflora of rats fed on high-cholesterol diet. *Appl Microbiol Biotechnol.* agosto de 2009;84(2):341-7.
95. Galdeano CM, Perdigón G. The Probiotic Bacterium *Lactobacillus casei* Induces Activation of the Gut Mucosal Immune System through Innate Immunity. *Clin Vaccine Immunol.* febrero de 2006;13(2):219-26.
96. Pennacchia C, Blaiotta G, Pepe O, Villani F. Isolation of *Saccharomyces cerevisiae* strains from different food matrices and their preliminary selection for a potential use as probiotics. *J Appl Microbiol.* diciembre de 2008;105(6):1919-28.
97. Contreras Mario Cervantes, Pedroza Rodríguez Aura Marina , El Pulque: Características Microbiológicas y Contenido Alcohólico Mediante Espectroscopia Raman. *NOVA - Publicación Científica En Ciencias Biomédicas - ISSN:1794-2470 vol.5 no. 8 diciembre de 2007:101-212 [Internet]. [citado 3 de noviembre de 2020].* Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/316654139_El_Pulque_Caracteristicas_Microbiologicas_y_Contento_Alcoholico_Median