

El papel de los probióticos en el desarrollo de bebidas fermentadas no lácteas

Laura Karen Bernal Pérez^{1*}, Laura Marissa Islas Romero² y Ana Eugenia Ortega Regules²

^{*}Programa de Doctorado en Ciencia de Alimentos

¹Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental

²Departamento de Ciencias de la Salud

Correos electrónicos: laura.bernalpz@udlap.mx • ana.ortega@udlap.mx

Bernal Pérez, L. K., Islas Romero, L. M. y Ortega Regules, A. E. (2024). El papel de los probióticos en el desarrollo de bebidas fermentadas no lácteas. *TSIA*, 18.



RESUMEN

Las bebidas probióticas no lácteas (BPNL) han surgido como una opción de alimento funcional para personas con restricciones alimentarias. El sustrato y el probiótico seleccionados son los factores principales que dan lugar a las características deseables e indeseables en la bebida terminada. El objetivo de esta revisión es recopilar información sobre las características fisicoquímicas, sensoriales y los beneficios a la salud reportados en bebidas probióticas fermentadas a partir de sustratos no lácteos. Debido a la fermentación, el pH, la acidez titulable, la viscosidad, los azúcares y los ácidos orgánicos son modificados, lo que a su vez influye en las características sensoriales de la bebida. Además, la fermentación podría generar compuestos bioactivos con beneficios para la salud. Sin embargo, algunos retos en la formulación de BPNL son la viabilidad de los probióticos, el uso de nuevas cepas como cultivos iniciadores y el uso de aditivos para mejorar su aceptabilidad por el consumidor.

Palabras clave: bacterias ácido lácticas, levaduras, características sensoriales, salud.

ABSTRACT

Non-dairy probiotic beverages (BPNL) have emerged as a suitable functional food option for people with food restrictions. The substrate and probiotic used as starter culture in BPNL production may lead to desired and non-desired characteristics. The objective of this revision article is to gather information about physicochemical and sensorial characteristics as well as health benefits reported in fermented non-dairy probiotic beverages. Due to fermentation, pH, titratable acidity, viscosity, sugar content, and organic acid content are modified. These parameters will also affect BPNL sensorial characteristics. Besides, fermentation could lead to bioactive components with health benefits. However, some BPNL formulation challenges are the probiotics viability, the use of new strains as started cultures and the use of food additives to improve BPNL consumer acceptability.

Keywords: lactic-acid bacteria, yeasts, sensorial attributes, health.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se ha observado un cambio en las tendencias de consumo de alimentos. Los consumidores son cada vez más conscientes del impacto de la comida en su bienestar. La decisión de compra de alimentos ya no se basa únicamente en la aceptabilidad sensorial, sino también en el aporte nutricional e incluso en la posibilidad de que el alimento tenga un efecto terapéutico en la prevención y tratamiento de enfermedades (Kokwar *et al.*, 2022). En este contexto, se ha registrado un crecimiento sostenido en el desarrollo de alimentos funcionales, entre los que se encuentran los probióticos.

De acuerdo con la FAO (2001), los probióticos son microorganismos vivos que, en cantidades adecuadas, confieren beneficios a la salud del consumidor. Para que una cepa sea considerada probiótica debe ser identificada, ser capaz de colonizar el intestino, no ser patógena, ser resistente a pH ácido y a sales biliares y tener la capacidad de crecer a 37 °C (Di Cagno *et al.*, 2020). Se ha establecido que el consumo de probióticos en una concentración mínima de 1×10^7 /mL o g (equivalente a 7 log UFC/mL o g) equilibra la microbiota intestinal y genera beneficios en la salud gastrointestinal, la respuesta inmune y la salud metabólica (Ignat *et al.*, 2020).

Dentro de la categoría de alimentos probióticos, los productos fermentados son los más populares. La fermentación ofrece ventajas como el incremento de la vida de anaquel de la materia prima, el desarrollo de características organolépticas únicas y la mejora de la calidad nutricional de los alimentos. En este sentido, las bebidas probióticas fermentadas son una opción práctica, rápida y de fácil consumo. En particular, las bebidas lácteas fermentadas han sido la opción por excelencia al tener alta aceptabilidad por los consumidores; sin embargo, el incremento de la población con intolerancias alimentarias a lácteos (caseína, β -lactoglobulina y lactosa), así como problemas metabólicos (dislipidemias, diabetes y obesidad) y el crecimiento de dietas vegetarianas y veganas, han impulsado el desarrollo de alternativas de BPNL (Lopusiewicz *et al.*, 2021). Cuando se emplean matrices no lácteas para la fermentación de bebidas, la viabilidad de los probióticos puede ser más difícil de alcanzar en comparación con la leche, puesto que algunos sustratos para la fermentación —como proteínas, hidratos de carbono, minerales y vitaminas— pueden estar limitados (Cunha Júnior *et al.*, 2022). A pesar de ello, no debe perderse de vista que los sistemas no lácteos contienen otros nutrientes como fibra

dietética y compuestos fenólicos (TPC), que pueden mejorar la actividad y crecimiento de los probióticos (Valero-Cases *et al.*, 2020). El efecto de la fermentación ácido-láctica sobre las características sensoriales y fisicoquímicas depende tanto de la matriz vegetal como de la cepa utilizada, pudiendo generar atributos deseables o indeseables (Lopusiewicz *et al.*, 2021; Fonseca *et al.*, 2022).

El objetivo de este artículo de revisión es recopilar los estudios más recientes sobre el uso de microorganismos y matrices alimentarias no lácteas en el desarrollo de bebidas probióticas, con énfasis en los efectos que producen los microorganismos en las características fisicoquímicas y sensoriales del producto terminado, así como los beneficios en la salud generados por su consumo. Por último, se mencionarán algunos retos y oportunidades identificados en investigaciones recientes en el desarrollo de BPNL.

1. Probióticos usados como cultivos iniciadores en bebidas de origen vegetal

Entre los probióticos más utilizados en la fermentación de bebidas se encuentran bacterias y levaduras. Las bacterias de los géneros más utilizados son *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactocaseibacillus* (*L. paracasei*, *L. rhamnosus* y *L. casei*) y *Lactiplantibacillus plantarum*. Estas bacterias comparten propiedades metabólicas y fisiológicas, como ser Gram positivas, no esporulantes y capaces de fermentar hidratos de carbono en ácido láctico (Wang *et al.*, 2022).

Por su parte, las levaduras probióticas se caracterizan por ser capaces de neutralizar enterotoxinas, resistir antibióticos y tener bajo riesgo de generar compuestos antagónicos (Wang *et al.*, 2022). Hasta el momento, *Saccharomyces cerevisiae* es la única cepa regulada y vendida de forma comercial (Di Cagno *et al.*, 2020). La producción de etanol suele ser una preocupación en el uso de levaduras; no obstante, se han reportado como cultivos iniciadores de BPNL, tanto de forma independiente como en cocultivos con bacterias ácido-lácticas (BAL), donde el contenido de etanol está por debajo del nivel establecido para catalogarse como bebida no alcohólica (Gerardi *et al.*, 2019; Di Cagno *et al.*, 2020; Oh *et al.*, 2020; Romero-Espinoza *et al.*, 2020; Freitas *et al.*, 2021; Ferreira *et al.*, 2022).

Asimismo, se ha estudiado el uso de cocultivos compuestos por levaduras y BAL. Se ha reportado que estos microorganismos podrían generar sinergia en la fermentación de la bebida e incrementar la viabilidad de los probióticos durante

su almacenamiento. Esto se debe, en parte, a que las levaduras otorgan factores de crecimiento como vitaminas (folatos), aminoácidos con actividad biológica, β -glucano y carotenoides, que favorecen la proliferación de BAL (Menezes *et al.*, 2018; Ferreira *et al.*, 2022). Por otro lado, al ser usados en conjunto, se reduce la producción de metabolitos indeseados que, en exceso, podrían incrementar el estrés oxidativo del medio y limitar la supervivencia de los probióticos durante su almacenamiento. Los cultivos individuales de BAL tienden a producir ácido láctico en exceso, mientras que las levaduras pueden producir etanol en porcentajes superiores a los permitidos para una bebida no alcohólica. En cambio, cuando las BAL y levaduras son empleados como cocultivos, compiten por los azúcares fermentables disponibles en el medio, lo que reduce la producción de ambos metabolitos (Ferreira *et al.*, 2022; Wang *et al.*, 2022). Sin embargo, no todos los cocultivos han sido sinérgicos, por lo que el efecto de cocultivos debe ser analizado en cada matriz alimentaria (Menezes *et al.*, 2018).

De forma general, la preparación de BPNL coincide en ciertos pasos, independientemente de la materia prima utilizada (figura 1). En primer lugar, es necesario seleccionar, lavar y desinfectar la materia prima, seguido de un proceso de molien-

da. Después, la materia prima es diluida en agua y se filtra. En esta etapa pueden añadirse algunos ingredientes para favorecer la fermentación, la estabilidad de los probióticos o el sabor (fructooligosacáridos, inulina, azúcar, canela o *buffers*). Luego, la mezcla tiene un tratamiento térmico para asegurar la inocuidad del producto, ya sea mediante pasteurización o esterilización, las condiciones del tratamiento térmico dependen en gran medida de la materia prima utilizada y de los compuestos que quieran protegerse de la degradación térmica. Tras enfriarse, la bebida es inoculada con la cepa de probiótico o cocultivo iniciador, en una concentración de alrededor de 7 log UFC/mL. La fermentación ocurrirá entonces de forma aerobia o anaerobia sin agitación a una temperatura cercana a los 37 °C. El tiempo de fermentación depende de la facilidad de los microorganismos para metabolizar los hidratos de carbono disponibles y disminuir el pH por debajo de 4.5. Por último, la bebida se almacena a 4 °C. El éxito de fermentación se determina por la capacidad de alcanzar un pH menor a 4.5 en un máximo de 24 horas, así como por la obtención de un producto de buena aceptación sensorial y una viabilidad de probióticos de al menos 7 log UFC/mL al momento de consumo (Palencia-Argel *et al.*, 2022).

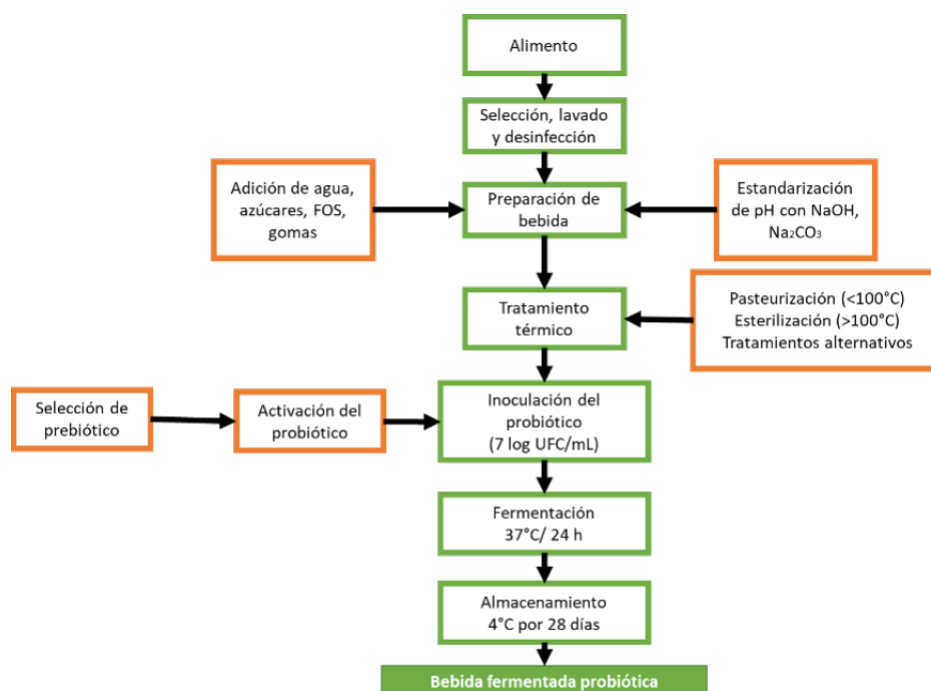


Figura 1.

Fuente: elaboración propia, adaptada de Palencia-Argel *et al.* (2022).

1.1. Frutos y verduras

Las frutas son ricas en hidratos de carbono (10-20 %) y en su mayoría son azúcares fermentables (> 5 %) como glucosa, sacarosa y fructosa. También tienen una alta cantidad de agua (81-90 %), así como buen aporte de vitamina A y C, y de compuestos bioactivos (carotenoides y antocianinas), que sirven como fuente de carbono, energía y factores de crecimiento necesarios para la supervivencia de los probióticos durante la fermentación. Los frutos tienen como ventajas el tener sabores agradables y dulces, que durante la fermenta-

ción producen diferentes características sensoriales y fisicoquímicas que, en general, favorecen su aceptación (Maldonado *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2021). En diferentes investigaciones se ha fermentado coco con cepas de *L. plantarum* (Prado *et al.*, 2015), *L. casei* (Cunha Júnior *et al.*, 2022) y *L. acidophilus* (Chavan *et al.*, 2018). Los frutos rojos (mora, arándano, granada, ciruela y açai), se han fermentado con *Pichia kudriavzevii* en combinación con *Wickerhamomyces subpelliculosus* (Di Cagno *et al.*, 2020); con *L. casei* (tabla 1) (Bernal-Castro *et al.*, 2019; Cheng *et al.*, 2020; Freitas *et al.*, 2021).

Tabla 1. Formulación y condiciones de fermentación de bebidas probióticas a base de frutas, verduras y hojas

Sistema alimentario	Porcentaje de adición	Otros ingredientes	Inóculo	Tratamiento térmico	Condiciones de fermentación			Carga inicial log UFC/mL	Carga final log UFC/mL	pH	% acidez ^c	Referencia
					T ^a	t ^b	Otros					
Açaí	35 % (p/v)	40 g/L FOS+10 g/L sacarosa	<i>L. casei</i> NRRL B- 442	Sin pasteurizar	28 °C	22 h	-	9	9.7	4.5	0.12	Freitas <i>et al.</i> (2021)
Agua de coco	100 %	2 % de sacarosa, 0.1 % de extracto de levadura y 3 % de proteína de soya	<i>L. plantarum</i> AC-1	Vapor durante 15 minutos	37 °C	10 h	Anaerobiosis	6	9.1	4	0.66	Prado <i>et al.</i> (2015)
Brote de bambú y jujuba	4:6 (jujuba: bambú)	-	<i>L. plantarum</i>	105 °C durante 15 minutos	37 °C	14 h	-	7	8.9	3.42	0.14	Zhao <i>et al.</i> (2021)
Cereza coralina	50 % (p/p) b.h.	-	<i>P. kudriavzevii</i> DCNa1 y <i>W. subpelliculosus</i> DFNb6	HHP ^d 6,000 bar a 5 °C durante 180 segundos	30 °C	48 h	Agitación a 200 rpm	6	8.01	2.75	0.13	Di Cagno <i>et al.</i> (2019)
Cereza de Santa Lucía	16 % (p/v)	-	<i>L. plantarum</i> FG69 y <i>S. cerevisiae</i> Li180-7	90 °C durante un minuto	25 °C	20 d	-	6	8.8	7.2	-	Gerardi <i>et al.</i> (2019)
Edamames	10 % p/v	-	<i>S. thermophilus</i>	75 °C durante 15 segundos	37 °C	24 h	-	6	8.22	4.8	0.2	Battistini <i>et al.</i> (2018)
Fresa, zarzamora y papaya	35 % (v/v)	1 % de inulina	<i>L. casei</i>	120 °C a 15 psi durante 15 minutos	37 °C	10 h	-	7.03	7.6	3.32	0.52*	Bernal-Castro <i>et al.</i> (2019)
Fruto de pan	7 %	5 % de azúcar	<i>L. acidophilus</i> y <i>L. plantarum</i>	121 °C durante 15 minutos	30 °C	48 h	-	5.95	7.96	3.69	-	Gao <i>et al.</i> (2019)

Tabla I. Formulación y condiciones de fermentación de bebidas probióticas a base de frutas, verduras y hojas (continuación)

Sistema alimentario	Porcentaje de adición	Otros ingredientes	Inóculo	Tratamiento térmico	Condiciones de fermentación			Carga inicial log UFC/mL	Carga final log UFC/mL	pH	% acidez ^c	Referencia
					T ^a	t ^b	Otros					
Granada	NE	NaOH 4 N para ajustar pH a 3.5	<i>L. plantarum</i> ATCC 14917	80 °C durante 5 minutos	30 °C	24 h	-	11.42	10.51	3.5	0.12	Mantzourani et al. (2019)
Macroalgas	30 g/L = 3 % (p/v)	1 % de (w/w) β-glucanasa y β-galactosidasa	<i>S. boulardii</i>	120 °C durante 15 minutos	32 °C	96 h	Agitación a 100 r/min	6.2	8.4	4.72	0.96	Trung et al. (2021)
Maracuyá	16.60 %	3 M NaOH para ajustar pH de 5.6	<i>L. plantarum</i> y <i>L. paracasei</i>	80 °C durante 5 minutos	37 °C	18 h	-	6	9	3.96	-	Fonseca et al. (2022)
Mora azul	5 % (v/v)	1.5 % de glucosa; ajuste de pH a 6.2 con Na ₂ CO ₃	<i>L. rhamnosus</i> GG y <i>L. plantarum</i> -1	90 °C durante 10 minutos	37 °C	12 h	-	7.5	11.19	3.8	4.65	Yan et al. (2019)
Mora azul	50 % (v/v)	ajuste de pH con Na ₂ CO ₃ al 10 % (w/v)	<i>L. plantarum</i>	85 °C durante 20 minutos	37 °C	48 h	-	7.2	8.4	3	0.391	Wu et al. (2021)
Piña	100 % jugo de piña comercial	4N de NaOH para ajustar pH inicial a 6.7 y fructooligosacárido (Raftaline) al 1 %	<i>L. plantarum</i>	-	37 °C	24 h	Anaerobiosis	6	8	3.9	-	Nguyen et al. (2019)
Pulpa de coco	25 % (p/v)	2.5 % FOS, 0.5 % pectina y 5 % azúcar	<i>L. casei</i>	80 °C durante 10 minutos	37 °C	12 h	Anaerobiosis	6.5	9.2	4.14	0.24	Cunha Júnior et al. (2022)
Puré de mora azul	44 % (p/v)	-	<i>L. casei</i>	80 °C durante 15 minutos	37 °C	42 h	-	7	7	3.24	-	Cheng et al. (2020)
Té verde	5 % (p/p)	0.5 % de glucosa y 0.06 % de extracto de levadura	<i>S. boulardii</i> CNCM I-745 y <i>L. plantarum</i> 299V	121 °C durante 15 minutos	30 °C	48 h	-	7	8.5	4.7	-	Wang et al. (2022)
Tomate	5 %	-	<i>L. plantarum</i>	121 °C durante 15 minutos	37 °C	24 h	-	7	9.78	3.39	0.95	Oh et al. (2020)
Verdolaga	-	-	<i>L. kunkeei</i>	Filtros de 0.22 μm	30 °C	36 h	-	7	8	4.8	-	Di Cagno et al. (2019)

Fuente: elaboración propia.
Nota: ^atemperatura, ^btiempo, ^cácido láctico y ^dhigh hydrostatic pressure.

Algunos frutos tropicales y exóticos han sido utilizados para la fermentación de BPNL, ya que este proceso disminuye la astringencia, aumenta la vida de anaquel y diversifica su consumo (Gerardi *et al.*, 2019). Algunos ejemplos son el dátil chino fermentado con *L. plantarum*; maracuyá con *L. plantarum* y *L. paracasei*; piña con *L. plantarum*; fruto de pan con *L. acidophilus*, *L. casei* y *L. plantarum*; y la cereza de Santa Lucía con *L. plantarum* y *S. cerevisiae* (Gao *et al.*, 2019; Gerardi *et al.*, 2019; Nguyen *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2021; Fonseca *et al.*, 2022).

No obstante, ciertos frutos no son aptos para la fermentación probiótica. En un estudio realizado por Maldonado *et al.* (2017) se observó inhibición de crecimiento de *L. casei*, *Streptococcus thermophilus* y *L. bulgaricus* tras 72 horas de fermentación con carambolo, mientras que en pitaya se obtuvo un contenido de 7×10^4 UFC/mL de BAL, valor inferior al que fue inoculado (1×10^6 UFC/mL). Los autores atribuyeron este cambio a la presencia de compuestos antimicrobianos (flavonoides, glicósidos, alcaloides, saponinos y esteroides) en el carambolo, y a la posible deficiencia de nutrientes esenciales para el metabolismo de los probióticos en la pitaya (Das *et al.*, 2013). El efecto antibacteriano también se ha reportado en frutos como granada, limón y arándano, en los que se redujo la carga inicial de *L. plantarum* debido a su alto contenido de fenoles, lo que pone en riesgo el efecto probiótico de la bebida (Mantzourani *et al.*, 2019).

Por otra parte, las verduras han sido poco empleadas como sustrato para la fermentación de BPNL. Esto se debe a que tienen un bajo aporte de proteína (< 2 %) y lípidos (< 0.5 %), así como una menor cantidad de hidratos de carbono en comparación con los frutos (~10 %); además, estos últimos son en su mayoría complejos, por lo que los microorganismos empleados en la fermentación deben contar con enzimas hidrolíticas para metabolizarlos. Como ventaja, las verduras aportan vitaminas (C, A, B9 y B12) y minerales (P, Mg, Ca, Fe, Zn, K e I) que pueden servir a los probióticos como factores de crecimiento. Algunas verduras usadas en la fermentación de bebidas probióticas son macroalga, tomate, edamames, verdolaga y té, en las que se ha empleado *L. kunkeei*, *S. boulardii*, *L. casei*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* y *S. thermophilus* solos o en combinación con *L. plantarum* (tabla I) (Battistini *et al.*, 2018; Di Cagno *et al.*, 2019; Oh *et al.*, 2020; Trung *et al.*, 2021;

Wang *et al.*, 2022). Se han observado distintos efectos según la cepa o cocultivo utilizado. En la fermentación de verduras, *L. plantarum* ha demostrado un incremento rápido en crecimiento y acidificación cuando se utiliza de forma individual; sin embargo, cuando se combina con cepas como *S. boulardii*, la velocidad de crecimiento disminuye, pero incrementa la magnitud de crecimiento de la bacteria hasta en 1.5 log UFC/mL. Los autores sugieren que este efecto se debe a que las levaduras estimulan el crecimiento de BAL durante la fermentación y el almacenamiento de la bebida (Oh *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2022). De forma similar, *L. casei* ha mostrado una acidificación más rápida que cuando se usa en combinación con *S. boulardii*, lo que evidencia su capacidad para producir enzimas que hidrolizan oligosacáridos en azúcares fermentables (Trung *et al.*, 2021). En la fermentación de verdolaga, *L. kunkeei* preservó el contenido de vitaminas C, A y E, además de incrementar la biodisponibilidad de B2 y TPC (Di Cagno *et al.*, 2019). Resultados similares fueron reportados por Oh *et al.* (2020), quienes observaron que en la fermentación de tomate con *L. plantarum* se incrementó en un 157 % el contenido total de polifenoles.

Tanto en la fermentación de frutos como en verduras, *L. plantarum* se distingue por ser una de las especies más aptas para la fermentación de BPNL debido a su tolerancia a pH ácido y a su frecuente aislamiento de matrices vegetales, lo que facilita su adaptación a este tipo de sistemas alimentarios (Mantzourani *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2021; Fonseca *et al.*, 2022). Después de *L. plantarum*, las especies *L. casei* y *L. acidophilus* suelen ser las más utilizadas. También se han realizado intentos para fermentar frutos y verduras con *S. thermophilus*; sin embargo, este probiótico ha demostrado tener menor potencial de crecimiento en mora azul, debido a que crece a una temperatura superior a 45 °C, aunque se ha adaptado adecuadamente en la fermentación de edamames a 37 °C (Wu *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2022).

1.2. Cereales y tubérculos

Los cereales son ricos en hidratos de carbono (50-80 %), fibra dietética (~2 %), vitaminas (A, D, E, B1, B2, B9 y B12), minerales (P, Mg, Ca, Fe, Zn, K e I) y fitoquímicos que los hacen aptos para la fermentación con BAL y levaduras probióticas (Kokwar *et al.*, 2022). Una limitación de los cereales como sustrato de fer-

mentación consiste en su bajo contenido de proteína y deficiencia de lisina y triptófano, por lo que algunos autores han propuesto la germinación de cereales previo a la fermentación y a la fortificación de proteína (Mridula D. y Sharma, 2015; Aparicio-García *et al.*, 2021).

Algunos de los cereales más usados en la fermentación de BPNL son el maíz (Menezes *et al.*, 2018; Wacoo *et al.*, 2019; Väkeväinen *et al.*, 2020); el teff (Alemneh *et al.*, 2021 y 2022); la avena (Aparicio-García *et al.*, 2021); el trigo, la cebada (Mridula D. y Sharma, 2015); el sorgo (Vila-Real *et al.*, 2022); el mijo (Mridula D. y Sharma, 2015; Vila-Real *et al.*, 2022); el yacón (Watanabe *et al.*, 2020), así como mezclas de cereales (Freire *et al.*, 2017; Arslan-Tontul y Erbas, 2020; Kokwar *et al.*, 2022). Los microorganismos más usados para la

fermentación de cereales son *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. casei* y *L. rhamnosus* de forma individual y algunos cocultivos probióticos, como *L. paracasei* con *S. cerevisiae*, *L. rhamnosus* con *L. plantarum*, *Weissella confusa* con *L. plantarum* y *Torulaspora delbrueckii* con *L. plantarum*. En menor medida se han usado cepas de *Bifidobacteria* (tabla II). Se ha notado un antagonismo en el uso de *L. paracasei* con *P. kluyveri* en la fermentación de maíz, al reducir la concentración de *L. paracasei* de 7.9 a 7.1 log UFC/mL, y de 6.1 a 5.8 log UFC/mL en la levadura tras fermentación por 24 horas (Menezes *et al.*, 2018). Al igual que en las verduras y frutas, *S. thermophilus* aparenta ser una cepa con menor adaptación a la fermentación de cereales en comparación con los lácteos (Wacoo *et al.*, 2019).

Tabla II. Formulación y condiciones de fermentación de bebidas probióticas a base de cereales

Sistema alimentario	Porcentaje de adición	Otros ingredientes	Inóculo	Tratamiento térmico	Condiciones de fermentación			Carga inicial log UFC/mL	Carga final log UFC/mL	pH	% acidez ^c	Referencia
					T ^a	t ^b	Otros					
Avena: cebada: trigo sarraceno: arroz rojo	10 % (p/v)	5 % de FOS + 0.04 % de goma guar	<i>L. plantarum</i> (NCIM 2084/ NCIB 8531)	65 °C durante 30 minutos	37 °C	6 h	-	9	9.7	4.87	0.36	Kokwar <i>et al.</i> (2022)
(Boza) maíz: trigo	25 % (p/v)	10 % de azúcar + 10 % de harina de garbanzo	<i>L. acidophilus</i> LA-5	90 °C durante 90 minutos	37 °C	24 h	Anaerobiosis	5	7.92	4.08	2.58	Arslan-Tontul y Erbas (2020)
Avena germinada	18 % (p/v)	0.35 % de bicarbonato de sodio, 0.2 % de sucralosa y 0.1 % de sal	<i>L. plantarum</i> WCFS1	90 °C durante 30 minutos	30 °C	4 h	Agitación a 140 rpm y anaerobiosis	6.8	8.9	6.9	0.42	Aparicio-García <i>et al.</i> (2021)
Cebada	6 % p/v	50 % de bebida vegetal de soya + 6 % de avena + 0.6 % de guar + 7 % de azúcar y 0.01 % de cardamomo	<i>L. acidophilus</i> NDC14	90 °C durante 5 minutos	37 °C	9 h	-	-	10.9	4.3	0.6	Mridula D. y Sharma (2015)
Linaza	9 %	1 % de glucosa	<i>L. rhamnosus</i> GG	60 °C durante 30 minutos	42 °C	24 h	Anaerobiosis	6	7.16	3.53	1.47	Lopusiewicz <i>et al.</i> (2021)
Maíz	8 % (p/v)	-	<i>L. paracasei</i> con <i>S. cerevisiae</i>	90 °C durante 60 minutos	37 °C	24 h	-	6 levaduras y 7 <i>L. paracasei</i>	7.6 <i>L. paracasei</i> y 7.0 levadura	4	> 0.5	Menezes <i>et al.</i> (2018)

Tabla II. Formulación y condiciones de fermentación de bebidas probióticas a base de cereales (continuación)

Sistema alimentario	Porcentaje de adición	Otros ingredientes	Inóculo	Tratamiento térmico	Condiciones de fermentación			Carga inicial log UFC/mL	Carga final log UFC/mL	pH	% acidez ^c	Referencia
					T ^a	t ^b	Otros					
Mijo de dedo	10 %	10 % de azúcar	<i>W. confusa</i> 2LABPT05 y <i>L. plantarum</i> 299V	Sin pasteurizar	30 °C	8 h	Agitación a 200 rpm	6	8	4.6	0.027	Vila-Real et al. (2022)
Mijo perla	4 % p/v	50 % de bebida vegetal de soya + 6 % de avena + 0.6 % de guar + 7 % de azúcar y 0.01 % de cardamomo	<i>L. acidophilus</i> NDC14	90 °C durante 5 minutos	37 °C	10 h	-	-	11.1	4.3	0.6	Mridula D. y Sharma (2015)
Salvado de arroz	10 %	7.5 % de miel, 0.5 % de pectina, 0.12 % de ácido cítrico y hidrolizado con fitasa	<i>L. casei</i>	90 °C durante 10 minutos	37 °C	72 h	-	-	9	5.8	-	Hatami et al. (2021)
Trigo germinado	7.86 %	50 % de bebida vegetal de soya + 6 % de avena + 0.6 % de guar	<i>L. acidophilus</i> NDC14	90 °C durante 5 minutos	37 °C	8 h	-	-	11.1	4.3	0.9	Mridula D. y Sharma (2015)
Yacón	60 % (p/v)	0.5 % de ácido ascórbico	<i>B. animalis ssp lactis</i> BB-12	121 °C durante 15 minutos	35 °C	10 h	Anaerobiosis	8	7.33	4.14	0.04	Watanabe et al. (2020)
Yuca y arroz	6 % yuca y 3 % arroz	-	<i>L. plantarum</i> CCMA 0743 y <i>T. delbrueckii</i> CCMA 0235	90 °C durante 20 minutos	37 °C	48 h	-	5 levaduras y 7 bacterias	7.6	4	0.083	Freire et al. (2017)

Fuente: elaboración propia.
Nota: ^atemperatura, ^btiempo, ^cácido láctico.

1.3. Leguminosas y semillas

Las semillas y leguminosas suelen ser una adecuada fuente para la fermentación de bebidas con probióticos. Las leguminosas son ricas en proteína (18-30 %), hidratos de carbono (30-60 %) y fibra (~5 %), con buen aporte de vitamina B9, fósforo y magnesio. Sin embargo, la proteína vegetal puede tener deficiencia de algunos aminoácidos esenciales, como metionina y cisteína, que se encuentran en cereales en adecuadas cantidades. Es por ello que algunos autores han optado por la combinación de leguminosas, cereales y semillas (Santos et al., 2014; Chavan et al., 2018; Ferreira et al., 2022).

Las semillas son densas en energía, con una alta cantidad de ácidos grasos mono y poliinsaturados (15-20 %), fibra (> 2.5 %), vitaminas (B6 y B2) y minerales (Mg, Ca y Fe) (Muncey y Hekmat, 2021). Este grupo de alimentos se

distingue de otras fuentes vegetales por tener un alto contenido de proteína, y cuando se usan como bebidas vegetales que simulan a la leche, tienen atributos sensoriales parecidos a los lácteos (Muncey y Hekmat, 2021).

Las semillas más utilizadas son el cacahuate, la almendra y las semillas de girasol, mientras que las leguminosas más empleadas son el garbanzo y el frijol. De forma innovadora, se ha implementado la fermentación de semillas autóctonas como nueces brasileñas y cacao blando. Los probióticos más usados en la fermentación de semillas son *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. acidophilus*, *L. plantarum* y algunas levaduras como *Debaryomyces hansenii* y *S. cerevisiae* (tabla III) (Santos et al., 2014; Mridula D. y Sharma, 2015; Pereira et al., 2017; Chavan et al., 2018; Cunha Júnior et al., 2020; Mesquita et al., 2020; Muncey y Hekmat, 2021; Ferreira et al., 2022).

Tabla III. Formulación y condiciones de fermentación de bebidas probióticas a base de leguminosas y semillas

Sistema alimentario	Porcentaje de adición	Otros ingredientes	Inóculo	Tratamiento térmico	Condiciones de fermentación			Carga inicial log UFC/mL	Carga final log UFC/mL	pH	% acidez ^c	Referencia
					T ^a	t ^b	Otros					
Cacahuete y soya	20 % (p/v)	-	<i>Pediococcus acidilactici</i> (UFLA BFFCX 27.1) con <i>S. cerevisiae</i> (UFLA YFFBM 18.03)	90 °C durante 20 minutos	37 °C	24 h	-	7	9	4.3	0.5	Santos et al. (2014)
Almendra		2 % de inulina	<i>L. rhamnosus</i> GR-1	121 °C durante 15 minutos	37 °C	9 h	Anaerobiosis	7	8	6.5	-	Muncey y Hekmat (2021)
Cacao blando	34 % (p/v)	-	<i>L. casei</i> NRRL B- 442	-	30 °C	18 h	-	7	9.3	4.3	0.55	Pereira et al. (2017)
Chicharo y coco	10 % de bebida vegetal de chicharo y 90 % de bebida vegetal de coco	-	<i>L. paracasei</i> LBC 81	121 °C durante 15 minutos	37 °C	9 h	-	7.2	8.6	4.8	0.22	Mesquita et al. (2020)
Frijol mungo	6 % (p/v)	50 % de bebida vegetal de soya + 6 % de avena + 0.6% de guar + 7 % de azúcar y 0.01 % de cardamomo	<i>L. acidophilus</i> NDC14	90 °C durante 5 minutos	37 °C	10 h	-	-	10.9	4.3	0.6	Mridula D. y Sharma (2015)
Semillas germinadas de cebada, ragi, frijol makusta	4 % (p/v)	92 % de bebida vegetal de coco, 4 % de azúcar y 0.07 % de cardamomo	<i>L. acidophilus</i>	90 °C durante 5 minutos	37 °C	6 h	-	4	11.4	4.5	1.2	Chavan et al. (2018)
Nueces brasileñas	25 %	2.5 % de inulina, 0.5 % de pectina y 5 % de azúcar	<i>L. casei</i>	80 °C durante 10 minutos	37 °C	12 h	Anaerobiosis	6.5	9.46	5.5	0.12	Cunha Júnior et al. (2020)
Semillas de girasol, avena y almendras	25 % (p/v)	-	<i>D. hansenii</i> y <i>L. plantarum</i>	80 °C durante 40 minutos	30 °C	12 h	-	6 levaduras y 7 <i>L. plantarum</i>	7.5 lev. y 8.5 <i>L. plantarum</i>	4.2	0.28	Ferreira et al. (2022)

Fuente: elaboración propia.
Nota: ^atemperatura, ^btiempo, ^cácido láctico.

2. Efecto de la fermentación con probióticos en las características de las bebidas terminadas

2.1. Características fisicoquímicas

2.1.1. pH, ácidos orgánicos y azúcares

La disminución del pH de forma rápida es un factor importante para el desarrollo de BPNL, ya que mejora la supervivencia de los probióticos en cantidades superiores a $6 \log \text{ UFC/mL}$ (Fonseca *et al.*, 2022). Es vital alcanzar valores de pH por debajo de 4.5 de forma rápida, puesto que disminuye el riesgo de contaminación microbiana durante la fermentación (Oh *et al.*, 2020; Alemneh *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2021). Esto se debe a que el pH bajo incrementa la concentración de ácidos orgánicos no disociados, lo que genera efectos antimicrobianos e inhibe los microorganismos causantes de deterioro que pudieran competir por nutrientes (Fonseca *et al.*, 2022). El metabolismo de azúcares produce ácidos orgánicos, por lo que la acidez de la bebida está íntimamente relacionada con las rutas metabólicas usadas por los microorganismos.

En particular, *L. acidophilus* prefiere la glucosa y la fructosa; se trata de una bacteria homofermentativa que emplea la ruta de Embden Meyerhof Parnas para la producción de ácido láctico (Yan *et al.*, 2019). En la fermentación del fruto de pan y bebida vegetal de coco, *L. acidophilus* se ha distinguido por provocar una disminución más rápida del pH en comparación con *L. plantarum*, *L. rhamnosus* o *L. casei* (Chavan *et al.*, 2018; Gao *et al.*, 2019).

Por su parte, *L. plantarum* y *L. casei* producen ácido láctico mediante el metabolismo de glucosa y fructosa. La velocidad de producción de ácido láctico y, por tanto, de acidificación, dependerá del contenido de estos sustratos en la matriz alimentaria

(Bernal-Castro *et al.*, 2019; Freitas *et al.*, 2021; Cunha Júnior *et al.*, 2022). En la fermentación de mora azul (Yan *et al.*, 2019) y teff (Alemneh *et al.*, 2021) con *L. rhamnosus* GG y *L. plantarum*-1 se utilizaron diferentes fuentes de carbono priorizando el uso de glucosa, seguido de fructosa, sacarosa y maltosa, y se alcanzó un pH cercano a 4.5. En algunos casos, como en la fermentación de jujuba y brotes de bambú con *L. plantarum*, no se registraron cambios significativos ($p < 0.05$) en el contenido de azúcares (sacarosa, glucosa y fructosa) después de la fermentación tras 14 horas (Zhao *et al.*, 2021). *L. casei* se distingue de *L. plantarum* por tener adaptabilidad a medios pobres en monosacáridos, ya que, por su actividad enzimática, metaboliza con mayor facilidad los oligosacáridos (agarosa) y la lactosa, lo que le permite incrementar el contenido de azúcares a partir de oligosacáridos y continuar acidificando el medio (Trung *et al.*, 2021).

L. paracasei, por su parte, es una bacteria heteroláctica, capaz de producir ácido acético y láctico. Cuando se utiliza de forma individual, ha mostrado una rápida acidificación del sustrato, aunque menor que cuando se emplea en cocultivo con levaduras. Aplicada en una bebida de maíz de forma individual, logró reducir el pH alrededor de 5.0 en aproximadamente 12 horas, mientras que en combinación con *S. cerevisiae*, alcanzó un pH de 4.0 en seis horas (Menezes *et al.*, 2018).

Pocas investigaciones incluyen la fermentación con *Bifidobacteria* de forma individual. En piña adicionada con azúcares, los autores identificaron que prefiere la glucosa a la fructosa y otros azúcares, aunque tiene la ventaja de hidrolizar carbohidratos e incluso puede usar sacarosa en su forma nativa, aunque tienen una baja velocidad de acidificación y una mayor producción de ácido acético (Nguyen *et al.*, 2019). *B. lactis* ssp. *lactis* ha sido empleado para la fermentación de yacón, aunque

se observó una tendencia de disminución de la viabilidad en el almacenamiento (Watanabe *et al.*, 2020).

Por otra parte, las levaduras prefieren la glucosa y fructosa como sustrato para la fermentación y generarán ácido málico (Gerardi *et al.*, 2019; Zhao *et al.*, 2021). Son más eficientes en el uso de glucosa como sustrato en comparación con las bacterias, dependen de la concentración inicial de azúcares en el medio, por lo que una vez agotado este sustrato, dejarán de fermentar la bebida, y habrá una disminución en la velocidad de acidificación. En la fermentación de cereza coralina con *P. kudriavzevii* DCNa1 y *W. subpelliculosus* DFNb6, hubo una disminución significativa ($p < 0.05$) en el contenido de glucosa y fructosa entre el inicio y término de la fermentación (Di Cagno *et al.*, 2020). En la investigación realizada por Gerardi *et al.* (2019), la fermentación de cereza de Santa Lucía con *S. cerevisiae* L1180-7 mostró un uso más efectivo de glucosa en comparación con la fermentación con *L. plantarum*. La eficiencia del uso de glucosa incrementó cuando ambos microorganismos se utilizaron como cocultivo siendo indetectable a los siete días de fermentación. Los ácidos orgánicos generados dependieron también de la cepa utilizada, *S. cerevisiae* tuvo como subproducto ácido málico, etanol y glicerol, *L. plantarum* produjo ácido láctico, mientras que al usarse como cocultivo generaron ácido acético y láctico, así como una mayor concentración de etanol.

Asimismo, durante la fermentación, algunos ácidos orgánicos diferentes al ácido láctico pueden disminuir en contenido, ya que algunos microorganismos como *L. casei* tienen la capacidad de emplear al ácido cítrico como fuente de carbono, mientras que *L. plantarum* y *S. thermophilus* pueden biotransformar el ácido málico o pirúvico por fermentación homoláctica, heteroláctica y otras vías metabólicas, lo que da como resultado un

incremento de ácido láctico, ácido acético y diacetil (Freitas *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021). Esto sucedió en la fermentación de mora azul (Yan *et al.*, 2019) con *L. rhamnosus* GG y *L. plantarum*-1, en la que también disminuyeron el ácido tartárico y oxálico. A su vez, Wu *et al.* (2021) observaron que en la zarzamora y la mora azul con *L. plantarum* y *B. bifidum*, además de presentar una disminución del ácido málico y cítrico, también hubo una reducción en el contenido de ácido shikímico.

Cabe considerar que la concentración y el tipo de matriz alimentaria modifican la velocidad de acidificación y las características finales de la bebida. En un estudio realizado por Hatami *et al.* (2021), se observó que la concentración de extracto de salvado de arroz afectó el pH y la acidez titulable, así como una disminución del contenido de sólidos totales. Esto es similar a lo reportado por Mridula *et al.* (2015), quienes hallaron que el incremento en el porcentaje de bebida vegetal de soya para fermentar cereales tuvo un efecto positivo en la velocidad de acidificación. En cuanto al tipo de matriz alimentaria, algunos microorganismos como *L. acidophilus* logran adaptarse mejor en alimentos ricos o adicionados con proteína y, por tanto, producen una mayor concentración de ácido láctico que se traduce en un pH más bajo (Prado *et al.*, 2015; Chavan *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2022).

Por último, otra circunstancia que afecta la velocidad de acidificación de las BPNL es la selección del cultivo iniciador. El uso de cepas individuales ha permitido alcanzar la concentración de probióticos necesaria y acidificar la bebida. Sin embargo, el uso de cocultivos ha logrado los mismos resultados en menor tiempo. En el caso de una bebida a base de teff, *L. plantarum* fue más efectivo en combinación con *L. rhamnosus* que de forma individual (Alemneh *et al.*, 2021).

2.1.2. Viscosidad

Pocos estudios han evaluado la viscosidad de las BPNL. La viscosidad puede modificarse tras la fermentación por la naturaleza de la matriz alimentaria. Di Cagno *et al.* (2020) notaron un incremento significativo ($p < 0.05$) de la viscosidad aparente de la bebida fermentada a base de cereza coralina en comparación con el control sin fermentar. Se obtuvo un valor inicial de 35.6 mPa que incrementó a 51.5 mPa tras 48 horas de fermentación a 30 °C con *P. kudriavzevii* DCNA1 y *Wucherhamomyces subpelliculosus* DFNB6. De acuerdo con los autores, ello pudo deberse a la capacidad de estas levaduras para producir polisacáridos, los cuales incrementan de forma inherente su viscosidad.

Otro factor que puede modificar la viscosidad es el uso de aditivos como gomas y fructooligosacáridos (FOS) en la formulación. En un experimento realizado por Kokwar *et al.* (2022), donde se fermentó una mezcla de cereales con diferentes mezclas de FOS y gomas, se observó que una adición de 5 % de FOS y 0.04 % de goma guar produjo una viscosidad de 61.67 cP, con una aceptación de 8.13 puntos en consistencia en una evaluación hedónica de nueve puntos. Asimismo, los autores identificaron que una viscosidad superior a 65 cP genera productos muy espesos, por lo que no es deseable en bebidas.

Vila-Real *et al.* (2022) proponen que los cambios de viscosidad en la fermentación de BPNL puede deberse también al tipo de cepa utilizada. En su investigación, identificaron una mayor viscosidad en el cocultivo de *W. confusa* con *L. plantarum* en una bebida a base de mijo de dedo. Tras la fermentación, la viscosidad incrementó significativamente de 11.9 a 35 mPas·s, que se atribuye a la capacidad de *W. confusa* de producir exopolisacáridos durante la fase estacionaria. Este fenómeno es dependiente del contenido de sacarosa. Por otro lado, algunos microorganismos pueden disminuir la viscosidad, ya que ocupan la fibra soluble como sustrato de fermentación. Esto pudo observarse en una bebida a base de linaza, en la que *L. rhamnosus* usó parcialmente al mucilago como sustrato de fermentación, lo que redujo su presencia y disminuyó significativamente ($p < 0.05$) la viscosidad final de la bebida (13.05 mPa·s) (Lopusiewicz *et al.*, 2021).

La temperatura también influye en la viscosidad y puede incrementarla hasta diez veces cuando la bebida pasa de tem-

peratura ambiente a refrigeración. Este fenómeno puede explicarse por la retrogradación del almidón en bebidas a base de cereales (Vila-Real *et al.*, 2022).

2.2. Características sensoriales

2.2.1. Color

En las bebidas fermentadas, el color puede modificarse por la reacción de Maillard, la oxidación de lípidos y compuestos fenólicos, así como por oscurecimiento enzimático (Prado *et al.*, 2015; Lopusiewicz *et al.*, 2021). Adicionalmente, se ha atribuido el cambio de color al aumento de la concentración de microorganismos, ya que estos pueden actuar como partículas de dispersión de luz que modifican los parámetros de color (Mesquita *et al.*, 2020).

En bebidas de coco, la pasteurización y la fermentación generan un producto más claro y amarillo indeseable (Cunha Júnior *et al.*, 2022). En cambio, en las bebidas a base de frutos rojos se ha demostrado que la fermentación tiene un efecto positivo, ya que al acidificarse el medio, ocurren cambios estructurales en las antocianinas presentes en el fruto, lo que da lugar a colores más vivos y mejor calificados por el panel evaluador (Freitas *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021).

Sin embargo, también existen frutos en los que la fermentación no genera cambio de color perceptible por el ojo humano ($\Delta E < 2.0$), como ocurre con la producción de una bebida de maracuyá (Fonseca *et al.*, 2022) y en una bebida de jujuba y brote de bambú (Zhao *et al.*, 2021). Una de las estrategias para evitar cambios de color consiste en escaldar la matriz alimentaria junto con el uso de ácido ascórbico como pretratamiento previo a la fermentación; ambas estrategias han resultado eficaces para fijar el color del producto y evitar cambios en el color por oxidación enzimática (Watanabe *et al.*, 2020).

2.2.2. Sabor

En gran medida, los sabores presentes en las bebidas fermentadas también dependen de las características iniciales de la matriz alimentaria utilizada, así como de la incorporación de ingredientes adicionales que mejoren el sabor, como acidulantes y azúcares. Múltiples BPNL han sido aceptadas organolépticamente (tabla IV).

Tabla IV. Evaluación sensorial hedónica de bebidas probióticas no lácteas

Microorganismo	Alimento	Tipo de evaluación sensorial	Número y tipo de jueces	Características evaluadas	Aceptabilidad general	Fuente
<i>L. casei</i>	Salvado de arroz	Hedónica, 10 puntos	10 panelistas	Color: 8.0, sabor: 8.5, aroma: 9.0	8.8	Hatami <i>et al.</i> (2021)
<i>L. acidophilus</i>	Trigo	Hedónica, 9 puntos	9 panelistas entrenados	Apariencia: 8.1, cuerpo: 8.6, olor: 8.4, sabor: 8.3	8.43	Mridula D. y Sharma (2015)
<i>L. plantarum</i> ATCC 14917	Granada	Hedónica, 10 puntos	30 jueces no entrenados	Aroma: 8.6, sabor: 8.5	8.2	Mantzourani <i>et al.</i> (2019)
<i>L. acidophilus</i>	Cebada, ragi y frijol makusta	Hedónica, 9 puntos	15 panelistas	Apariencia: 7.1 , aroma: 8.2, consistencia: 6.3, sabor: 7.9	8	Chavan <i>et al.</i> (2018)
<i>L. plantarum</i> (NCIM 2084/NCIB 8531)	Avena, cebada, trigo sarraceno y arroz rojo	Hedónica, 9 puntos	10 jueces entrenados	Apariencia: 7.86, sabor: 7.9, aroma: 7.86, sensación en boca: 8.06, consistencia: 8.13	7.99	Kokwar <i>et al.</i> (2021)
<i>L. acidophilus</i>	Frijol mungo	Hedónica, 9 puntos	9 panelistas entrenados	Cuerpo: 7.4, olor: 7.6, sabor: 7.5	7.6	Mridula D. y Sharma (2015)
<i>L. acidophilus</i>	Avena	Hedónica, 9 puntos	9 panelistas entrenados	Apariencia: 7.4, cuerpo: 6.9, olor: 6.9, sabor: 7.1	7.5	Mridula D. y Sharma (2015)
<i>L. acidophilus</i>	Cebada	Hedónica, 9 puntos	9 panelistas entrenados	Apariencia: 7.4, cuerpo: 8.6, olor: 8.4, sabor: 8.5	7.4	Mridula D. y Sharma (2015)
<i>L. plantarum</i> WCFS1	Avena germinada	Hedónica, 9 puntos	16 panelistas no entrenados	Color: 7, aroma: 6.0, sabor: 6.3, consistencia: 8.8	6.8	Aparicio-García <i>et al.</i> (2021)
<i>L. rhamnosus</i>	Maíz	Hedónica, 9 puntos	62 panelistas	Apariencia: 6.2, color: 6.6, aroma: 6.7, sabor: 6.8	6.4	Wacoo <i>et al.</i> (2019)
<i>L. casei</i> NRRL B- 442	Acai	Hedónica, 9 puntos	60 jueces no entrenados	Color: 6.07, apariencia: 5.7, sabor: 6.43	6.13	Freitas <i>et al.</i> (2021)
<i>L. plantarum</i> CCMA 0743 y <i>T. delbrueckii</i> CCMA 0235	Yuca y arroz	Hedónica, 9 puntos	50 panelistas no entrenados	Apariencia: 6.17, sabor: 4.94, color: 6.01	5.23	Freire <i>et al.</i> (2017)
<i>L. plantarum</i> AC-1	Agua de coco	Hedónica, 7 puntos	20 no entrenados	Aspecto: 4.35, color: 3.90, aroma: 3.1, sabor: 4.05	3.75	Prado <i>et al.</i> (2015)
<i>L. plantarum</i> FG69 y <i>S. cerevisiae</i> Li180-7	Cereza de Santa Lucía	Descriptiva, 5 puntos de intensidad	7 jueces no entrenados	Dulzor: 1.29 y acidez: 2.43	2.57	Gerardi <i>et al.</i> (2019)

Fuente: elaboración propia.

Un parámetro crucial en la aceptabilidad del sabor es la presencia de ácido láctico, que en ocasiones se ha correlacionado con una mayor aceptabilidad e intención de compra. No obstante, cuando este metabolito se encuentra en cantidades excesivas, puede generar una percepción aumentada de sabores amargos y ácidos que comprometería la aceptación del producto (Wu *et al.*, 2021). Por otro lado, el ácido acético es indeseable en las bebidas fermentadas, ya que se ha relacionado con sabores pungentes y desagradables. Diversos autores (Yan *et al.*, 2019; Freitas *et al.*, 2021) han mostrado que para reducir la producción de ácido acético se recomienda un tiempo de fermentación inferior a 24 horas y no inocular el probiótico con más de 7 log UFC/mL.

Adicionalmente, ciertos componentes de la matriz alimentaria pueden afectar la aceptación del sabor de la bebida. Por ejemplo, alimentos ricos en taninos, como frutas y verduras, pueden presentar una mayor acidez y astringencia en la bebida terminada. Se ha observado que en estos casos la fermentación con probióticos puede mejorar la calidad sensorial del alimento al biotransformar algunos ácidos orgánicos y fenólicos, lo que disminuye la percepción de sabores indeseables (Wu *et al.*, 2021). En el caso de los cereales, que inicialmente tienen un sabor más neutro, su aceptabilidad está determinada en gran medida por la acidez; a mayor acidez, menor aceptación (Wacoo *et al.*, 2019). En algunos casos se ha optado por añadir especias, como canela o cardamomo, y edulcorantes (sacarosa, sucralosa y glucosa) que mejoran el sabor de la bebida fermentada (Mridula D. y Sharma, 2015; Cunha Júnior *et al.*, 2022).

Por otra parte, los sabores obtenidos en la fermentación de BPNL también se han correlacionado con el tipo de cultivo usado. En particular, Gao *et al.* (2019) mostraron que, entre las diferentes cepas utilizadas para la fermentación de fruto de pan, las fermentadas de forma individual y en combinación con *L. casei* generaron sabores desagradables. También ha sucedido con la fermentación de maíz con *L. plantarum*, que generó sabores ácidos, pungentes, intensos y desagradables, en comparación con *L. lactis* y *P. pentosaceus*, que generaron

sabores más suaves, frescos y dulces (Väkeväinen *et al.*, 2020). Por el contrario, el uso de cocultivos de probióticos puede generar sabores con mayor aceptabilidad, como es el caso de *L. plantarum* con *L. acidophilus* o con levaduras, combinaciones que han reportado sabores frutales agradables y un nivel de acidez suave (Gao *et al.*, 2019; Gerardi *et al.*, 2019).

2.2.3. Aroma y compuestos volátiles

El tipo y la cantidad de compuestos volátiles presentes en las bebidas fermentadas determinan características organolépticas únicas; por ello, su presencia es deseable y está íntimamente ligada con la aceptación sensorial del producto. La producción de compuestos volátiles se ve favorecida por el alto contenido de hidratos de carbono, de modo que las frutas, verduras, cereales y leguminosas fermentadas suelen producir diferentes olores agradables (Trung *et al.*, 2021). Debe recordarse que, al igual que otros parámetros sensoriales, el tipo y cantidad de compuestos volátiles son dependientes de la cepa usada en la fermentación, dado que son metabolitos generados por las rutas metabólicas preferidas por cada microorganismo (Fonseca *et al.*, 2022).

En el caso de la fermentación de cereza coralina, se han identificado alcoholes (1-pentanol, feniletanol, etanol, farnesol, 2-metil-1-propanol y neridol) y ésteres (etil acetato) relacionados con aromas florales y frutales agradables (Di Cagno *et al.*, 2020). En la fermentación de granada se han identificado alcoholes con perfil floral, como el 2-etil-1-hexanol (Mantzourani *et al.*, 2019). En la fermentación de maracuyá se produjeron 2,6-octadien-1-ol, 3,7-dimetil- y 1-dodecanol, compuestos atribuidos a olores frutales, florales y a grasa (Fonseca *et al.*, 2022). En la fermentación de té se ha observado producción de etil-ésteres, metil-salicilato, geranio y 2-feniletanol, relacionados con aromas frutales y mentolados, así como una reducción de sabores herbales y frescos (Wang *et al.*, 2022).

En cereales, la fermentación proporciona la formación de compuestos volátiles, como ácidos orgánicos, alcoholes, aldehídos, cetonas y carbonilos, que contribuyen a sabores complejos

que los hace más apetitosos (Kokwar *et al.*, 2022). En semillas se ha identificado la producción de compuestos volátiles con percepción sensorial amaderada, especiada, floral, de lavanda, rosas, dulces, afrutada y de cocoa, así como aromas desagradables a grasa, pungentes y rancio (Ferreira *et al.*, 2022). En contraste, las altas concentraciones de aldehídos se han vinculado con percepción sensorial desagradable, por generar olores similares a lácteos, grasa, jabón, metálicos y pungentes (Mantzourani *et al.*, 2019; Di Cagno *et al.*, 2020; Ferreira *et al.*, 2022).

3. Beneficios a la salud asociados al consumo de bebidas probióticas fermentadas no lácteas

3.1. Aporte nutrimental

Las BPNL son ricas en fibra por la naturaleza de sus ingredientes, la adición de gomas o FOS y por la producción de exopolisacáridos de los probióticos durante la fermentación. La fibra otorga múltiples beneficios a la salud, además de funcionar como prebiótico y aumentar la viabilidad de los probióticos de las bebidas durante su almacenamiento (Zhao *et al.*, 2021). Las bebidas a base de cereales han mostrado tener un aporte de 4.5 % de fibra total, mientras que las bebidas a base de frutos suelen tener un menor contenido de fibra, cercano al 1 % (Zhao *et al.*, 2021; Kokwar *et al.*, 2022). El contenido y tipo de hidratos de carbono de las bebidas a base de plantas les confiere un índice glucémico bajo (< 55), por lo que pueden ser consumidas por población con enfermedades metabólicas como diabetes, síndrome metabólico, dislipidemias, entre otras (Kokwar *et al.*, 2022).

En cuanto al aporte proteínico, la fermentación de fuentes vegetales ha incrementado hasta tres veces la presencia inicial de treonina, arginina, ácido gamma aminobutírico y glutamina, aminoácidos con impacto positivo en el mantenimiento de la integridad de la mucosa y la barrera intestinal, así como en la modulación de la motilidad intestinal. Además del aporte de aminoácidos, la fermentación mejora la digestibilidad de las proteínas, ya que el pH bajo favorece la desnaturalización de proteínas y, al mismo tiempo, mejora la actividad

enzimática de proteasas. Este proceso transforma las estructuras proteínicas complejas en péptidos de menor tamaño que pueden absorberse de forma más eficiente (Oh *et al.*, 2020; Vila-Real *et al.*, 2022).

En cuanto a las grasas, los probióticos pueden producir ácidos grasos de cadena corta que ayudan a combatir trastornos como diarrea, síndrome de intestino irritable, problemas cardíacos y diabetes tipo 2. También se han producido ácidos grasos de cadena larga como ácido linoleico y mirístico, que intervienen en el metabolismo del colesterol y los triglicéridos, además de disminuir la resistencia a la insulina (Aparicio-García *et al.*, 2021; Ferreira *et al.*, 2022).

Igualmente, la fermentación de fuentes vegetales puede incrementar la presencia de compuestos bioactivos, como compuestos fenólicos, flavonoides, glutatión, butirato, folato y aminoácidos bioactivos, los cuales a su vez incrementan la actividad antioxidante (Nguyen *et al.*, 2019; Oh *et al.*, 2020; Freitas *et al.*, 2021; Lopusiewicz *et al.*, 2021). Por otra parte, la fermentación reduce la presencia de antinutrientes que pudieran afectar la digestibilidad proteínica, la biodisponibilidad de micronutrientes e incluso el metabolismo de algunos microorganismos, dado que algunos microorganismos producen enzimas capaces de degradar estos compuestos.

En una bebida a base de mijo de dedo, la digestibilidad de proteínas incrementó de 25 a 64 % después de la fermentación. Los autores atribuyeron este efecto a la posible reducción de taninos en la bebida tras la fermentación, ya que estos compuestos pueden interferir con la acción de las enzimas digestivas; al disminuir su presencia, se incrementan la digestibilidad y biodisponibilidad de proteínas. En el mismo estudio, se desarrolló una bebida fermentada a base de sorgo que, en comparación con la de mijo de dedo, presentó menor velocidad de acidificación y menor crecimiento microbiano, especialmente de levaduras. Los autores mencionan que esto pudo deberse al alto contenido de taninos en la harina de sorgo, los cuales pudieron haber interferido con el crecimiento de *Weissella*, mientras que *L. plantarum* 299V resultó ser una cepa más apta

para la fermentación de este cereal por presentar actividad de tanasa, la cual es capaz de metabolizar estos compuestos fenólicos (Vila-Real *et al.*, 2022).

Adicionalmente, antinutrientes como los fitatos pueden afectar la absorción de minerales y vitaminas. Se ha identificado que algunos probióticos, en especial *Lactiplantibacillus*, pueden producir fitasas que resultan en un incremento de vitaminas del complejo B, zinc, calcio, magnesio, fósforo, hierro y manganeso en las bebidas terminadas, en comparación con el sustrato inicial. Este efecto puede incrementarse si se combina con una fermentación de entre 35 y 42 °C, temperatura ideal para la actividad de fitasas (Freire *et al.*, 2017; Di Cagno *et al.*, 2019; Vila-Real *et al.*, 2022).

Por último, recientemente se ha investigado el efecto de la fermentación en la reducción de micotoxinas; en este sentido, *L. rhamnosus* ha reducido de forma exitosa el contenido de aflatoxinas en bebidas fermentadas a base de maíz (Wacoo *et al.*, 2019).

3.2. Estudios preliminares de efectos en la salud de bebidas probióticas no lácteas

El consumo de probióticos se usa como estrategia para mejorar el equilibrio de la microbiota y, de esta forma, obtener beneficios en la salud. Al consumir probióticos se corrige la disbiosis intestinal, lo que mejora el metabolismo de la lactosa, la inmunidad, la absorción de calcio, la digestibilidad de proteínas y la síntesis de vitaminas, además de reducir los niveles de colesterol (Watanabe *et al.*, 2020; Rasika *et al.*, 2021).

Algunos estudios han aplicado BPNL en modelos *in vivo* e *in vitro* para demostrar el efecto en la salud. El efecto antimicrobiano es uno de los más reportados en probióticos, como consecuencia de la producción de compuestos antimicrobianos —bacteriocinas, peróxido de hidrógeno y ácidos orgánicos— que evitan la colonización de microorganismos patógenos en el intestino. Este efecto fue evaluado con una cepa de *L. rhamnosus* presente en una bebida fermentada de bagazo de linaza desgrasado y artificialmente contaminado con *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. entérica* y *S. aureus*, y mostró una reducción completa de estos microorganismos patógenos después de 48 horas (Lopusiewicz *et al.*, 2021). En un estudio similar, Zamfir *et al.*

(2022) obtuvieron una inhibición total de *E. coli*, *B. cereus*, *S. entérica*, *L. monocytogenes* y *S. aureus* en bebidas a base de salvado de trigo con zanahoria o betabel fermentadas por *L. plantarum* o *L. acidophilus*. De igual forma, Angelescu *et al.* (2019) confirmaron la actividad antibacteriana *in vitro* de diferentes cepas aisladas de bebidas lácteas y vegetales, como *L. harbinensis*, *L. ghanensis*, *L. satsumensis* y *L. plantarum* ante *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* y *E. coli*. Por su parte, Di Cagno *et al.* (2020) identificaron, en un estudio *in vitro*, que *Pichia kudriavzevii* tiene alta adherencia al intestino, hidrofobicidad y autoagregación, características que le otorgarían una mayor facilidad de colonización en el intestino y que, por tanto, podría prevenir la colonización de patógenos.

Asimismo, Yan *et al.* (2019) midieron *in vitro* en ratones el efecto antiestrés oxidativo e hipocolesterolemizante de una bebida probiótica de mora azul fermentada con *L. plantarum*. Los autores atribuyeron la baja colesterolemia a la posible unión hidrofóbica del colesterol con las antocianinas presentes en la bebida que evitaban su absorción. El efecto antiestrés oxidativo, por su parte, se vinculó a una mayor presencia de polifenoles y flavonoides en la bebida fermentada en comparación con la bebida control. Estos antioxidantes redujeron la presencia de radicales libres que causan fatiga, lo que se tradujo en un incremento en la resistencia de nado de los ratones. Cabe mencionar que el efecto fue directamente proporcional a la dosis consumida de la bebida fermentada probiótica.

Otro de los efectos en salud se observó en una bebida de verdolaga fermentada con *L. kunkei*, que disminuyó los niveles de citocinas proinflamatorias y radicales libres. Al mismo tiempo, inhibió la inflamación inducida de células monocapa Caco-2, lo que sugiere que esta bebida tiene la capacidad de contrarrestar la inflamación intestinal y el daño epitelial. Los autores atribuyen este efecto al TPC y a las vitaminas C, A, E y B2 de la bebida, los cuales podrían limitar la producción de prostaglandina E2, un compuesto crítico en la reacción inflamatoria aguda (Di Cagno *et al.*, 2019). Se requieren más estudios para la aplicación *in vivo* de estas bebidas.

4. Retos y oportunidades en el uso de probióticos como cultivos iniciadores

4.1. Viabilidad de los probióticos

La viabilidad y supervivencia de los probióticos en las BPNL establecen el tiempo de vida de anaquel del producto, ya que para que una bebida sea considerada probiótica debe mantener una concentración mínima de microorganismos vivos en el momento del consumo. La FAO (2001) estableció como mínimo un valor de 1×10^7 UFC/mL; otras organizaciones, como The Canadian Food Inspection Agency, establece una cantidad de 9 log UFC por porción (Alemneh *et al.*, 2022). La viabilidad de los probióticos suele disminuir a lo largo del almacenamiento, por lo que se han aplicado diversas estrategias para mantener estable su contenido.

La primera estrategia consiste en otorgar los suficientes nutrientes para que los probióticos continúen incrementando su concentración durante el almacenamiento; para ello es esencial una buena fuente de nutrientes como azúcares, proteínas y minerales de reserva tras la fermentación (Kokwar *et al.*, 2022). No obstante, el aumento de fuentes de carbono también incrementará la producción de ácido, lo cual, como se ha mencionado, podría no ser deseable (Yan *et al.*, 2019; Freitas *et al.*, 2021).

Debe considerarse que un ambiente ácido, en conjunto con otros compuestos antimicrobianos producidos por probióticos (diacetil, bacteriocinas y peróxido de hidrógeno), puede evitar el riesgo de contaminación con microorganismos pató-

genos, pero también incrementar el estrés de los probióticos en la bebida y poner en riesgo su supervivencia. Por ello, una segunda estrategia consiste en evitar un pH debajo de 3.5 al finalizar la fermentación (Lopusiewicz *et al.*, 2021). Adicionalmente, podrían añadirse prebióticos que funjan como reserva de fuente de carbono o que encapsulen a los probióticos, protegiéndolos del ambiente ácido y hostil que pudiera generarse a lo largo del almacenamiento (Nguyen *et al.*, 2019; Cunha Júnior *et al.*, 2020 y 2022; Freitas *et al.*, 2021; Muncey y Hekmat, 2021; Kokwar *et al.*, 2022).

Otra estrategia es el uso de cocultivos, el cual parece mejorar la viabilidad de algunas BPNL; como se ha comentado, los microorganismos podrían competir por los sustratos, generando menos metabolitos indeseados, o bien producir compuestos útiles, de modo que se genere una sinergia y se incremente la viabilidad de ambos microorganismos (Freire *et al.*, 2017; Menezes *et al.*, 2018; Gerardi *et al.*, 2019; Di Cagno *et al.*, 2020; Alemneh *et al.*, 2021; Trung *et al.*, 2021).

Por último, la refrigeración ha sido el método de conservación más utilizado en las BPNL. Múltiples bebidas han logrado mantener su efecto probiótico en almacenamiento por al menos 28 días a 4 °C (tabla V). Esto es posible porque la refrigeración disminuye la velocidad de crecimiento de los microorganismos como resultado de la disminución de la actividad enzimática (amilasa y glucosidasa) y de las reacciones químicas necesarias para el metabolismo de los microorganismos (Alemneh *et al.*, 2022).

Tabla V. Viabilidad de probióticos en almacenamiento

Sistema alimenticio	Probiótico	Prebiótico	Tiempo	Temperatura	Conteo inicial	Conteo final	Referencias
Teff	<i>L. plantarum</i> y <i>L. rhamnosus</i>	-	25 días	4-6 °C	8.2 LA6 y 8.4 LGG	8.28 <i>L. plantarum</i> y 7.86 <i>L. rhamnosus</i>	Alemneh <i>et al.</i> (2022)
Avena germinada	<i>L. plantarum</i> WCFS1	-	20 días	4 °C	8.9	8.9	Aparicio-García <i>et al.</i> (2021)

Tabla V. Viabilidad de probióticos en almacenamiento (continuación)

Sistema alimenticio	Probiótico	Prebiótico	Tiempo	Temperatura	Conteo inicial	Conteo final	Referencias
(Boza) maíz: trigo	<i>L. acidophilus</i> LA-5	-	12 días	4 °C	7.92	6.96	Arslan-Tontul y Erbas (2020)
Edamames	<i>S. thermophilus</i>	-	28 días	5 °C	8.22	7.9	Battistini et al. (2018)
Nueces brasileñas	<i>L. casei</i>	2.5 % de inulina, 0.5 % de pectina y 5 % de azúcar	28 días	4 °C	9.46	8.58	Cunha Júnior et al. (2020)
Pulpa de coco	<i>L. casei</i>	2.5 % FOS*, 0.5 % de pectina y 5 % de azúcar	28 días	4 °C	9.2	9.06	Cunha Júnior et al. (2022)
Semillas de girasol, avena y almendras	<i>D. hansenii</i> y <i>L. plantarum</i>	-	28 días	4 °C	7.5 <i>D. hansenii</i> y 8.5 <i>L. plantarum</i>	> 8	Ferreira et al. (2022)
Maracuyá	<i>L. plantarum</i> y <i>L. paracasei</i>	-	28 días	4 °C	9	8.5	Fonseca et al. (2022)
Acai	<i>L. casei</i> NRRL B- 442	40 g/L FOS + 10 g/L sacarosa	42 días	4 °C	9.7	8.9	Freitas et al. (2021)
Salvado de arroz	<i>L. casei</i>	-	21 días	4 °C	9	7.2	Hatami et al. (2021)
Avena, cebada, trigo sarraceno y arroz rojo	<i>L. plantarum</i> (NCIM 2084/ NCIB 8531)	5 % FOS + 0.04 % goma guar	20 días	4 °C	9.7	7.58	Kokwar et al. (2022)
Granada	<i>L. plantarum</i> ATCC 14917	-	28 días	4 °C	10.51	8.83	Mantzourani et al. (2019)
Chícharo y coco	<i>L. paracasei</i> LBC 81	-	10 días	4 °C	8.6	8.9	Mesquita et al. (2020)
Almendra	<i>L. rhamnosus</i> GR-1	2 % de inulina	30 días	4 °C	8	> 8	Muncey y Hekmat (2021)
Piña	<i>L. plantarum</i>	FOS: (Raftaline) al 1 %	56 días	4 °C	8	> 9	Nguyen et al. (2019)
Agua de coco	<i>L. plantarum</i> AC-1	-	28 días	4 °C	9.1	8.7	Prado et al. (2015)
Maíz	<i>L. rhamnosus</i>	-	28 días	4 °C	8.7	> 8	Wacoo et al. (2019)
Té verde	<i>S. boulardii</i> CNCM I-745 y <i>L. plantarum</i> 299V	-	31 días	25 °C	7.5	7	Wang et al. (2022)
Yacón	<i>B. animalis ssp lactis</i> BB-12	-	28 días	7 °C	7.33	8.05	Watanabe et al. (2020)

Fuente: elaboración propia.

Nota: *FOS: fructooligosacáridos.

4.2. Uso de aditivos

A pesar de que es posible fermentar fuentes vegetales con probióticos, las BAL suelen tener dificultades para sobrevivir, ya que las matrices alimentarias vegetales son más complejas que las lácteas y carecen de algunos nutrimentos esenciales, como la proteína (Maldonado *et al.*, 2017). Para resolver este problema se ha añadido proteína de soya, gluten, zeína, extracto de levadura o harina de chícharo a matrices alimentarias como coco, té, maíz y boza (Prado *et al.*, 2015; Arslan-Tontul y Erbas, 2020; Wang *et al.*, 2022). La adición de proteína de soya (3 % p/v) con extracto de levadura (0.1 % p/v) en una bebida a base de coco resultó en una mayor densidad óptica de *L. plantarum* y *B. animalis* subsp *lactis* en comparación con la adición de ambos ingredientes en porcentajes inferiores (Prado *et al.*, 2015). En un estudio realizado por Arslan-Tontul y Erbas, (2020), se realizó una bebida estilo boza enriquecida con proteína y evaluaron el efecto de la fuente (gluten, zeína o harina de chícharo) y la cantidad de proteína añadida a la bebida previo a la fermentación. Se observó que el tipo de proteína tuvo un efecto significativo ($p < 0.05$) en el pH, el contenido de proteína total y el crecimiento de *S. boulardii*, *L. acidophilus* y *B. bifidum*, además de reportar una mayor producción de compuestos volátiles; la harina de chícharo fue la que generó los mejores resultados.

También se ha propuesto la adición de prebióticos (fructooligosacáridos, inulina y galactooligosacáridos) a bebidas prebióticas fermentadas, ya que, además de aumentar la viabilidad de los probióticos, pueden aportar mayor dulzor, mejorar el sabor y la textura de las bebidas, además de prevenir sinéresis durante el almacenamiento (Prado *et al.*, 2015; Bernal-Castro *et al.*, 2019; Freitas *et al.*, 2021; Kokwar *et al.*, 2022). No obstante, en algunos casos, como en la fermentación de edamames y piña, la adición de inulina, fructooligosacáridos o ambos no tuvo efecto en la viabilidad de los probióticos (Battistini *et al.*, 2018; Nguyen *et al.*, 2019).

El pH inicial de los alimentos puede influir en la fermentación, ya que algunos probióticos son susceptibles a condiciones extremas de acidez (pH 2.5-3.6) (Bernal-Castro *et al.*, 2019). En un estudio realizado por Freitas *et al.* (2021) se evaluaron diferentes niveles de pH para el crecimiento de *L. casei* mediante una superficie de respuesta, en las que se halló que un pH

cercano a 6.0 mejoraba la viabilidad del probiótico. Por ello, en algunos alimentos ácidos se opta por alcalinizar el pH de la matriz alimentaria antes de la inoculación mediante la adición de Na_2CO_3 , o NaOH (Mantzourani *et al.*, 2019; Yan *et al.*, 2019; Freitas *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2021). Aunque en general la alcalinización tiene efectos favorables, en otros casos, como lo reportaron Aparicio-García *et al.* (2021) en la fermentación de avena germinada, la adición de alcalinizantes provocó que el pH no disminuyera lo suficiente ($\text{pH} > 6.0$), lo que comprometió la inocuidad de la bebida. La alcalinización se realizó con bicarbonato con el objetivo de disminuir la actividad de lipasas, cuya acción se incrementa tras la germinación, lo cual libera ácidos grasos y genera sabores amargos no deseables que después podrían repercutir en la aceptación de la bebida. Cabe señalar que su adición no afectó la viabilidad ni crecimiento de los probióticos. Por este motivo, el impacto negativo en el contenido nutrimental, sensorial y de inocuidad por la alcalinización con Na_2CO_3 y NaOH de la materia prima aún debe ser estudiado (Palencia-Argel *et al.*, 2022). Asimismo, se ha propuesto el uso de alimentos naturalmente alcalinos, como la papaya, para aumentar el pH de bebidas fermentadas (Bernal-Castro *et al.*, 2019).

Por último, se han añadido sabores artificiales, especias, sacarosa y sucralosa para intensificar sabores o mejorar el perfil de las bebidas fermentadas (Mridula D. y Sharma, 2015; Gao *et al.*, 2019; Arslan-Tontul y Erbas, 2020; Freitas *et al.*, 2021; Cunha Júnior *et al.*, 2022). Esto abre una nueva área de oportunidad, en la que las bebidas fermentadas puedan combinarse con ingredientes que mejoren su aceptación sensorial, recuperen aromas perdidos durante el proceso o disminuyan la percepción del sabor ácido inicial.

CONCLUSIONES Y COMENTARIOS FINALES

De acuerdo con los artículos analizados, se puede concluir que las características finales de las BPNL dependen de la composición inicial del sustrato y de la cepa utilizada durante el proceso; por lo tanto, se requiere un análisis específico de cada bebida probiótica no láctea. Los probióticos más empleados en

el desarrollo de este tipo de bebidas son *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *S. cerevisiae*, *S. boulardii* y *L. plantarum*. Cuando las BAL y las levaduras se utilizan como cocultivo, se ha observado un mayor tiempo de fermentación, aunado a una creciente viabilidad de ambos microorganismos. La sinergia entre cepas debe ser estudiada y puede variar con respecto al sustrato y las condiciones de fermentación. Los frutos, cereales, leguminosas y semillas suelen preferirse para la preparación de BPNL por su alto contenido de hidratos de carbono fermentables por probióticos, los cuales aseguran una viabilidad de 8 log UFC/mL después de la fermentación. Las BPNL se caracterizan por tener un pH inferior a 4.5 debido a la presencia de ácido láctico y acético, y a una disminución en la concentración de glucosa, fructosa y sacarosa. En cuanto al aroma y sabor, se ha reportado una gran variedad de compuestos volátiles como ácidos orgánicos, alcoholes, aldehídos, cetonas y carbonilos que generalmente se asocian a aromas frutales y florales agradables.

El consumo de BPNL ha demostrado beneficios a la salud, debido a la presencia de compuestos antimicrobianos, hipocolesterolemiantes, antiinflamatorios y antioxidantes. Desde el punto de vista nutricional, la fermentación incrementa el contenido de fibra, mejora la biodisponibilidad de proteínas, aporta ácidos grasos de cadena corta, incrementa la presencia de compuestos bioactivos y disminuye antinutrientes como fitatos. Sin embargo, el beneficio a la salud depende de la viabilidad de microorganismos al momento del consumo. Para asegurar la viabilidad de los microorganismos durante el almacenamiento, se ha optado por la adición de prebióticos, azúcares, extracto de levadura o proteínas vegetales que sirvan como fuente de carbono y nitrógeno durante el almacenamiento y la refrigeración, con lo que se logra una mayor viabilidad de los probióticos por hasta cuatro semanas.

AGRADECIMIENTOS

La autora Bernal-Pérez agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) —hoy Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)— y a la Universidad de las Américas Puebla (UDLAP) por el apoyo otorgado para sus estudios de doctorado.

REFERENCIAS

- Alemneh, S. T., Emire, S. A. y Hitzmann, B. (2021). Teff-based probiotic functional beverage fermented with *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus plantarum*. *Foods*, 10(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/foods10102333>
- Alemneh, S. T., Emire, S. A., Jekle, M. y Hitzmann, B. (2022). Effect of refrigerated storage on some physicochemical characteristics of a teff-based fermented beverage and the viability of the fermenting *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lactocaseibacillus rhamnosus* used. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(11), e17034. <https://doi.org/10.1111/jfpp.17034>
- Angelescu, I. R., Zamfir, M., Stancu, M. M. y Grosu-Tudor, S. S. (2019). Identification and probiotic properties of *Lactobacilli* isolated from two different fermented beverages. *Annals of Microbiology*, 69(13), 1557-1565. <https://doi.org/10.1007/s13213-019-01540-0>
- Aparicio-García, N., Martínez-Villaluenga, C., Frias, J. y Peñas, E. (2021). Production and characterization of a novel gluten-free fermented beverage based on sprouted oat flour. *Foods*, 10(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/foods10010139>
- Arslan-Tontul, S. y Erbas, M. (2020). Co-culture probiotic fermentation of protein-enriched cereal medium (boza). *Journal of the American College of Nutrition*, 39(1), 72-81. <https://doi.org/10.1080/07315724.2019.1612796>
- Battistini, C., Gullón, B., Ichimura, E. S., Gomes, A. M. P., Ribeiro, E. P., Kunigk, L., Moreira, J. U. V. y Jurkiewicz, C. (2018). Development and characterization of an innovative synbiotic fermented beverage based on vegetable soybean. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(2), 303-309. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.08.006>
- Bernal-Castro, C. A., Díaz-Moreno, C. y Gutiérrez-Cortés, C. (2019). Inclusion of prebiotics on the viability of a commercial *Lactobacillus casei* subsp. *Rhamnosus* culture in a tropical fruit beverage. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 987-994. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-03565-w>
- Chavan, M., Gat, Y., Harmalkar, M. y Waghmare, R. (2018). Development of non-dairy fermented probiotic drink based on germinated and ungerminated cereals and legume. *LWT*, 91, 339-344. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.070>
- Cheng, Y., Wu, T., Chu, X., Tang, S., Cao, W., Liang, F., Fang, Y., Pan, S. y Xu, X. (2020). Fermented blueberry pomace with antioxidant properties improves fecal microbiota community structure and short chain fatty acids production in an in vitro mode. *LWT*, 125, 109260. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109260>
- Cunha Júnior, P. C. da, Oliveira, L. de S. de, Blanco, J. C., Silva, M. T. de C., Gálvez, S. G. L., Rosenthal, A. y Ferreira, E. H. da R. (2022). Elaboration, characterization, and probiotic viability of synbiotic non-dairy drink based on coconut. *Ciência Rural*, 53. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210723>

- Cunha Júnior, P. C. da, Oliveira, L. de S. de, Gouvêa, L. de P., Alcantara, M. de, Rosenthal, A. y Ferreira, E. H. da R. (2020). Symbiotic drink based on Brazil nuts (*Bertholletia excelsa* H. B. K): Production, characterization, probiotic viability and sensory acceptance. *Ciência Rural*, 51. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20200361>
- Das, J., Datta, Z., Saha, A., Mohammad Nur, S., Barua, P., Rahman, M., Ahmed, K., Mostofa, M., Chowdhury, R. y Mannan, A. (2013). A comprehensive study on antioxidant, antibacterial, cytotoxic and phytochemical properties of Averrhoa carambola. *International Journal of Bioassays*, 02, 803-807.
- Di Cagno, R., Filannino, P., Cantatore, V., Polo, A., Celano, G., Martinovic, A., Cavoski, I. y Gobbetti, M. (2020). Design of potential probiotic yeast starters tailored for making a cornelian cherry (*Cornus mas* L.) functional beverage. *International Journal of Food Microbiology*, 323, 108591. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108591>
- Di Cagno, R., Filannino, P., Vincentini, O., Cantatore, V., Cavoski, I. y Gobbetti, M. (2019). Fermented *Portulaca oleracea* L. juice: a novel functional beverage with potential ameliorating effects on the intestinal inflammation and epithelial injury. *Nutrients*, 11(2), article 2. <https://doi.org/10.3390/nu11020248>
- FAO. (2001). *Probióticos en los alimentos. Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación*.
- Ferreira, I., de Sousa Melo, D., Menezes, A. G. T., Fonseca, H. C., de Assis, B. B. T., Ramos, C. L., Magnani, M., Dias, D. R. y Schwan, R. F. (2022). Evaluation of potentially probiotic yeasts and *Lactiplantibacillus plantarum* in co-culture for the elaboration of a functional plant-based fermented beverage. *Food Research International*, 160, 111697. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111697>
- Fonseca, H. C., Melo, D. de S., Ramos, C. L., Menezes, A. G. T., Dias, D. R. y Schwan, R. F. (2022). Sensory and flavor-aroma profiles of passion fruit juice fermented by potentially probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* CCMA 0743 strain. *Food Research International*, 152, 110710. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110710>
- Freire, A. L., Ramos, C. L., da Costa Souza, P. N., Cardoso, M. G. B. y Schwan, R. F. (2017). Nondairy beverage produced by controlled fermentation with potential probiotic starter cultures of lactic acid bacteria and yeast. *International Journal of Food Microbiology*, 248, 39-46. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.02.011>
- Freitas, H. V., Dos Santos Filho, A. L., Rodrigues, S., Abreu, V. K. G., Narain, N., Lemos, T. D. O., Gomes, W. F. y Pereira, A. L. F. (2021). Synbiotic açai juice (*Euterpe oleracea*) containing sucralose as noncaloric sweetener: processing optimization, bioactive compounds, and acceptance during storage. *Journal of Food Science*, 86(3), 730-739. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15617>
- Gao, Y., Hamid, N., Gutierrez-Maddox, N., Kantono, K. y Kitundu, E. (2019). Development of a probiotic beverage using breadfruit flour as a substrate. *Foods*, 8(6), article 6. <https://doi.org/10.3390/foods8060214>
- Gerardi, C., Tristezza, M., Giordano, L., Rampino, P., Perrotta, C., Baruzzi, F., Capozzi, V., Mita, G. y Grieco, F. (2019). Exploitation of *Prunus mahaleb* fruit by fermentation with selected strains of *Lactobacillus plantarum* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiology*, 84, 103262. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103262>
- Hatami, S., Tajabadi, N., Massoud, R. y Sharifan, A. (2021). Chemical and sensorial properties of probiotic beverage based on rice bran extract and honey. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01500-2>
- Ignat, M. V., Salanță, L. C., Pop, O. L., Pop, C. R., Tofană, M., Mudura, E., Coldea, T. E., Borșa, A. y Pasqualone, A. (2020). Current functionality and potential improvements of non-alcoholic fermented cereal beverages. *Foods*, 9(8), 1031. <https://doi.org/10.3390/foods9081031>
- Kokwar, M. A., Arya, S. S. y Bhat, M. S. (2022). A cereal-based nondairy probiotic functional beverage: an insight into the improvement in quality characteristics, sensory profile, and shelf-life. *Journal of Food Processing & Preservation*, 46(1), 1-12. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16147>
- Lopusiewicz, L., Drożdowska, E., Trocer, P., Kostek, M., Bartkowiak, A. y Kwiatkowski, P. (2021). The development of novel probiotic fermented plant milk alternative from flaxseed oil cake using *Lactobacillus rhamnosus* GG acting as a preservative agent against pathogenic bacteria during short-term refrigerated storage. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 266-276. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2021.v33.i4.2679>
- Maldonado, R. R., Araújo, L. da C., Dariva, L. C. da S., Rebac, K. N., Pinto, I. A. de S., Prado, J. P. R., Saeki, J. K., Silva, T. S., Takematsu, E. K., Tiene, N. V., Aguiar-Oliveira, E., Buosi, R. E., Deziderio, M. A. y Kamimura, E. S. (2017). Potential application of four types of tropical fruits in lactic fermentation. *LWT*, 86, 254-260. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.005>
- Mantzourani, I., Kazakos, S., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Bekatorou, A. y Plessas, S. (2019). Potential of the probiotic *Lactobacillus Plantarum* ATCC 14917 strain to produce functional fermented pomegranate juice. *Foods*, 8(1), article 1. <https://doi.org/10.3390/foods8010004>
- Menezes, A. G. T., Ramos, C. L., Dias, D. R. y Schwan, R. F. (2018). Combination of probiotic yeast and lactic acid bacteria as starter culture to produce maize-based beverages. *Food Research International*, 111, 187-197. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.065>
- Mesquita, M. C., Leandro, E. dos S., de Alencar, E. R. y Botelho, R. B. A. (2020). Fermentation of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and coconut (*Coccus nucifera* L.) beverages by *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* LBC 81: the influence

- of sugar content on growth and stability during storage. *LWT*, 132, 109834. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109834>
- Mridula D. y Sharma, M. (2015). Development of non-dairy probiotic drink utilizing sprouted cereals, legume and soymilk. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 482-487. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.011>
- Muncey, L. y Hekmat, S. (2021). Development of probiotic almond beverage using *Lactocaseibacillus rhamnosus* GR-1 fortified with short-chain and long-chain inulin fibre. *Fermentation*, 7(2), article 2. <https://doi.org/10.3390/fermentation7020090>
- Nguyen, B. T., Bujna, E., Fekete, N., Tran, A. T. M., Rezessy-Szabo, J. M., Prasad, R. y Nguyen, Q. D. (2019). Probiotic beverage from pineapple juice fermented with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Frontiers in Nutrition*, 6. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2019.00054>
- Oh, Y. J., Kim, T. S., Moon, H. W., Lee, S. Y., Lee, S. Y., Ji, G. E. y Hwang, K. T. (2020). *Lactobacillus plantarum* PMO 08 as a probiotic starter culture for plant-based fermented beverages. *Molecules*, 25(21), article 21. <https://doi.org/10.3390/molecules25210506>
- Palencia-Argel, M., Rodríguez-Villamil, H., Bernal-Castro, C., Díaz-Moreno, C. y Fuenmayor, C. A. (2022). Probiotics in anthocyanin-rich fruit beverages: Research and development for novel synbiotic products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(1), 1-17. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2104806>
- Pereira, A. L. F., Feitosa, W. S. C., Abreu, V. K. G., Lemos, T. de O., Gomes, W. F., Narain, N. y Rodrigues, S. (2017). Impact of fermentation conditions on the quality and sensory properties of a probiotic cupuassu (*Theobroma grandiflorum*) beverage. *Food Research International*, 100, 603-611. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.055>
- Prado, F. C., Lindner, J. D. D., Inaba, J., Thomaz-Soccol, V., Brar, S. K. y Soccol, C. R. (2015). Development and evaluation of a fermented coconut water beverage with potential health benefits. *Journal of Functional Foods*, 12, 489-497. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.020>
- Rasika, D. M. D., Vidanarachchi, J. K., Luiz, S. F., Azeredo, D. R. P., Cruz, A. G. y Ranadheera, C. S. (2021). Probiotic delivery through non-dairy plant-based food matrices. *Agriculture*, 11(7), article 7. <https://doi.org/10.3390/agriculture11070599>
- Romero-Espinoza, A. M., Serna-Saldivar, S. O., Vintimilla-Alvarez, M. C., Brio-nes-García, M. y Lazo-Vélez, M. A. (2020). Effects of fermentation with probiotics on anti-nutritional factors and proximate composition of lupin (*Lupinus mutabilis* sweet). *LWT*, 130, 109658. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109658>
- Santos, C. C. A. do A., Libeck, B. da S. y Schwan, R. F. (2014). Co-culture fermentation of peanut-soy milk for the development of a novel functional beverage. *International Journal of Food Microbiology*, 186, 32-41. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.06.011>
- Trung, V. T., Van Huynh, T., Thinh, P. D., San, P. T., Bang, T. H. y Hang, N. T. (2021). Probiotic fermented beverage from macroalgae. *Natural Product Communications*, 16(12), 1934578X211066145. <https://doi.org/10.1177/1934578X211066145>
- Väkeväinen, K., Hernández, J., Simontaival, A. I., Severiano-Pérez, P., Díaz-Ruiz, G., von Wright, A., Wachter-Rodarte, C. y Plumed-Ferrer, C. (2020). Effect of different starter cultures on the sensory properties and microbiological quality of *Atole agrio*, a fermented maize product. *Food Control*, 109, 106907. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106907>
- Valero-Cases, E., Cerdá-Bernad, D., Pastor, J. J. y Frutos, M. J. (2020). Non-dairy fermented beverages as potential carriers to ensure probiotics, prebiotics, and bioactive compounds arrival to the gut and their health benefits. *Nutrients*, 12(6), article 6. <https://doi.org/10.3390/nu12061666>
- Vila-Real, C., Pimenta-Martins, A., Mbugua, S., Hagrétou, S. L., Katina, K., Maina, N. H., Pinto, E. y Gomes, A. M. P. (2022). Novel synbiotic fermented finger millet-based yoghurt-like beverage: nutritional, physicochemical, and sensory characterization. *Journal of Functional Foods*, 99, 105324. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105324>

- Wacoo, A. P., Mukisa, I. M., Meeme, R., Byakika, S., Wendi, D., Sybesma, W. y Kort, R. (2019). Probiotic enrichment and reduction of aflatoxins in a traditional african maize-based fermented food. *Nutrients*, 11(2), article 2. <https://doi.org/10.3390/nu11020265>
- Wang, R., Sun, J., Lassabliere, B., Yu, B. y Liu, S. Q. (2022). Green tea fermentation with *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 and *Lactiplantibacillus plantarum* 299V. *LWT*, 157, 113081. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113081>
- Watanabe, F. M. F., Marques, C., Farias, F. O., Ellendersen, L. N. y Masson, M. L. (2020). Yacon-based beverage as non-dairy vehicle for *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*: stability and *In vitro* probiotic viability. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(4), 11458-11472. <https://doi.org/10.33263/BRIAC114.1145811472>
- Wu, Y., Li, S., Tao, Y., Li, D., Han, Y., Show, P. L., Wen, G. y Zhou, J. (2021). Fermentation of blueberry and blackberry juices using *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus* and *Bifidobacterium bifidum*: growth of probiotics, metabolism of phenolics, antioxidant capacity *in vitro* and sensory evaluation. *Food Chemistry*, 348, 129083. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129083>
- Yan, Y., Zhang, F., Chai, Z., Liu, M., Battino, M. y Meng, X. (2019). Mixed fermentation of blueberry pomace with *L. rhamnosus* GG and *L. plantarum*-1: enhance the active ingredient, antioxidant activity and health-promoting benefits. *Food and Chemical Toxicology*, 131, 110541. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.05.049>
- Zamfir, M., Angelescu, I. R., Voaides, C., Cornea, C. P., Boiu-Sicuia, O. y Grosu-Tudor, S. S. (2022). Non-dairy fermented beverages produced with functional lactic acid bacteria. *Microorganisms*, 10(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10122314>
- Zhao, C.-M., Du, T., Li, P., Du, X. J. y Wang, S. (2021). Production and characterization of a novel low-sugar beverage from red jujube fruits and bamboo shoots fermented with selected *Lactiplantibacillus plantarum*. *Foods*, 10(7), article 7. <https://doi.org/10.3390/foods10071439>