
AVANCES EN EL ESTUDIO DE LA BIOACTIVIDAD MULTIFUNCIONAL DEL KÉFIR

JOSÉ CARLOS RODRÍGUEZ-FIGUEROA, JUAN ANTONIO NORIEGA-RODRÍGUEZ, ARMANDO LUCERO-ACUÑA y ARMANDO TEJEDA-MANSIR

RESUMEN

El kéfir es una bebida láctea fermentada con bioactividad multifuncional. Esta bebida se elabora inoculando granos de kéfir en la leche, que su vez representa una fuente de compuestos con actividad biológica. La microbiota de los granos de kéfir está constituida principalmente por levaduras, bifidobacterias y bacterias ácido lácticas y ácido acéticas. Estos microorganismos simbióticos generan metabolitos tales como exopolisacáridos, ácidos orgánicos y bacteriocinas; además, liberan péptidos con potencial bioactivo. Las secuencias peptídicas re-

sultantes pueden presentar estructuras químicas similares a las de los péptidos endógenos que actúan en el organismo como hormonas, neurotransmisores o reguladores. Estudios recientes in vitro e in vivo han demostrado que el kéfir posee múltiples bioactividades, e.g., antioxidante, antihipertensiva, hipocolesterolémica, antimicrobiana, antiinflamatoria hipoglucemiante y antitumoral. En esta revisión se presentan los avances logrados acerca de la composición de la microbiota, los beneficios a la salud y futuras perspectivas de estudio del kéfir.



El kéfir ha sido considerado tradicionalmente como una bebida láctea fermentada, refrescante y promotora de buena salud (García Fontán *et al.*, 2006; Ebner *et al.*, 2015). El origen de esta bebida se remonta a los Balcanes, Europa del Este y el Cáucaso (Satir y Guzel-Seydim, 2016). El término 'kéfir' posiblemente provenga de la palabra *keyif* del turco, la cual significa 'sentirse bien' (Can *et al.*, 2009). En la actualidad, el consumo de esta bebida láctea fermentada continúa ga-

nando popularidad a nivel internacional (Marsh *et al.*, 2014).

La ingesta de kéfir ha estado asociada con la longevidad de los habitantes del Cáucaso (Kuwabara *et al.*, 1995). La premisa sugiere que esta bebida no solamente aporta nutrientes, sino que además proporciona moléculas bioactivas que contribuyen a la buena salud. En esta revisión se presentan los avances sobre el conocimiento de la microbiota y la bioactividad multifuncional del kéfir y se discuten las necesidades futuras de

investigación de esta bebida como producto probiótico.

Microbiota de los Granos de Kéfir

La elaboración del kéfir está basada en la actividad fermentativa de la microbiota de los granos de kéfir sobre los componentes químicos de la leche (Satir y Guzel-Seydim, 2016). Los granos de kéfir (Figura 1) están constituidos por un consorcio de microorganismos, embebidos en una matriz de exopolisacáridos,

PALABRAS CLAVE / Alimento Funcional / Bioactividad Multifuncional / Kéfir / Lácteos /

Recibido: 01/09/2016. Modificado: 30/05/2017. Aceptado: 01/06/2017.

José Carlos Rodríguez-Figueroa. Ingeniero Bioquímico Administrador en Procesado de Alimentos, Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, México. Maestro en Ciencias, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD), México. Doctor en Ciencias, CIAD, A.C., México. Profesor Investigador, Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia, Universidad de Sonora (UniSon), México. Email: jose.rodriguez@unison.mx.

Juan Antonio Noriega-Rodríguez. Ingeniero Químico, UniSon, México. Maestro en Ciencias y Tecnología de Alimentos, UniSon, México. Doctor en Ciencias en Alimentos, Instituto Tecnológico de Veracruz, México. Profesor Investigador, Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia, UniSon, México. Email: janoriega@guayacan.unison.mx.

Armando Lucero-Acuña. Ingeniero Químico, UniSon, México. Maestro en Ciencias de la Ingeniería, UniSon, México. Ph. D. Ciencias de la Ingeniería Química, University of Arizona, EE.UU. Profesor Investigador, Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia, UniSon, México. Email: jalucero@ciencias.uson.mx.

Armando Tejeda Mansir. Doctor en Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional. México. Investigador, UniSon, México. Dirección: Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas, UniSon, Av. Luis Donaldo Colosio Murrieta s/n, entre Sahuaripa y Reforma, Centro, Hermosillo, Sonora, México. C.P. 83000. e-mail: atejeda@guayacan.uson.mx

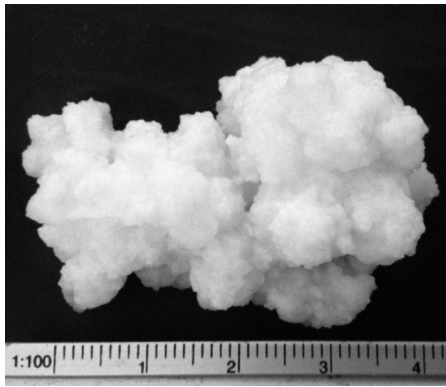


Figura 1. Granos de kéfir.

proteínas y lípidos formando pequeños gránulos irregulares, semiduros y de color blanco-amarillento (Guzel-Seydim *et al.*, 2011; Satir y Guzel-Seydim, 2015). Numerosos estudios han reportado la composición de la microbiota presente en la bebida y/o en los granos de kéfir (Wyder *et al.*, 1997; Simova *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2003; Zhou *et al.*, 2009; Cruz *et al.*, 2010; Teixeira *et al.*, 2010; Kesmen y Kacmaz, 2011; Kök-Taş *et al.*, 2012; Leite *et al.*, 2013; Ferreira *et al.*, 2015; Korsak *et al.*, 2015). Estos microorganismos simbióticos están constituidos principalmente por bifidobacterias, bacterias ácido lácticas (BAL) y acéticas (BAA), además de levaduras. La Tabla I muestra la composición de la microbiota presente en la bebida y/o en los granos de kéfir. Esta tabla muestra la amplia variedad de especies de microorganismos que conforman este consorcio, particularmente los pertenecientes a las BAL. Por otro lado, Marsh *et al.* (2013) sugieren que las bifidobacterias se encuentran en menor proporción.

La diversidad de los microorganismos presentes en los granos de kéfir demanda que una gran cantidad y variabilidad de nutrientes estén biodisponibles en el medio de cultivo. En este sentido, la utilización de la lactosa como fuente de carbono durante la fermentación de la leche ha sido ampliamente estudiada y se conocen las rutas metabólicas correspondientes; en contraste, la capacidad del consorcio para hidrolizar y consumir proteínas no está claramente dilucidado (Dallas *et al.*, 2016).

Un estudio reciente demostró que durante la elaboración de kéfir utilizando la leche como sustrato, las BAL fueron los microorganismos predominantes (Dallas *et al.*, 2016). Aún cuando se ha encontrado auxotrofia para varios aminoácidos en las BAL, éstas poseen un sistema proteolítico complejo. Este sistema está constituido por serina

TABLA I
MICROBIOTA DE KÉFIR PRESENTE EN LA BEBIDA O EN LOS GRANOS

Microorganismos	Referencia
Bifidobacterias	
<i>Bifidobacterium</i> spp.	Marsh <i>et al.</i> , 2013
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Kök-Taş <i>et al.</i> , 2012
<i>Bifidobacterium breve</i>	Dobson <i>et al.</i> , 2011
<i>Bifidobacterium choerinum</i>	Dobson <i>et al.</i> , 2011
<i>Bifidobacterium longum</i>	Dobson <i>et al.</i> , 2011
<i>Bifidobacterium pseudolongum</i>	Dobson <i>et al.</i> , 2011
Bacterias ácido lácticas	
<i>Lactococcus (Lc.) lactis</i>	Zhou <i>et al.</i> , 2009; Kesmen y Kacmaz, 2011
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Simova <i>et al.</i> , 2002; Zhou <i>et al.</i> , 2009; Leite <i>et al.</i> , 2013
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	Leite <i>et al.</i> , 2013; Korsak <i>et al.</i> , 2015
<i>Lc. raffinolactis</i>	Kesmen y Kacmaz, 2011
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Simova <i>et al.</i> , 2002; Kesmen y Kacmaz, 2011; Kök-Taş <i>et al.</i> , 2012
<i>Lactobacillus (Lb.) kefiranofaciens</i>	Santos <i>et al.</i> , 2003; Kesmen y Kacmaz, 2011; Leite <i>et al.</i> , 2013
<i>Lb. kefiranofaciens</i> subsp. <i>kefirgranum</i>	Teixeira <i>et al.</i> , 2010; Kök-Taş <i>et al.</i> , 2012
<i>Lb. kefiranofaciens</i> subsp. <i>kefiranofaciens</i>	Teixeira <i>et al.</i> , 2010; Kök-Taş <i>et al.</i> , 2012
<i>Lb. kefir</i>	Zhou <i>et al.</i> , 2009; Kesmen y Kacmaz, 2011; Leite <i>et al.</i> , 2013
<i>Lb. parakefiri</i>	Leite <i>et al.</i> , 2013
<i>Lb. plantarum</i>	Cruz Pedrozo Miguel <i>et al.</i> , 2010
<i>Lb. kéfir</i>	Santos <i>et al.</i> , 2003; Cruz Pedrozo Miguel <i>et al.</i> , 2010
<i>Lb. paracasei</i>	Cruz Pedrozo Miguel <i>et al.</i> , 2010
<i>Lb. helveticus</i>	Simova <i>et al.</i> , 2002; Zhou <i>et al.</i> , 2009; Kök-Taş <i>et al.</i> , 2012
<i>Lb. parakefiri</i>	Cruz Pedrozo Miguel <i>et al.</i> , 2010
<i>Lb. satsumensis</i>	Cruz Pedrozo Miguel <i>et al.</i> , 2010
<i>Lb. uvarum</i>	Cruz Pedrozo Miguel <i>et al.</i> , 2010
<i>Lb. casei</i>	Zhou <i>et al.</i> , 2009; Kesmen y Kacmaz, 2011
<i>Lb. paracasei</i>	Santos <i>et al.</i> , 2003
<i>Lb. brevis</i>	Simova <i>et al.</i> , 2002; Santos <i>et al.</i> , 2003
<i>Lb. plantarum</i>	Santos <i>et al.</i> , 2003
<i>Lb. delbrueckii</i>	Santos <i>et al.</i> , 2003
<i>Lb. acidophilus</i>	Santos <i>et al.</i> , 2003; Kesmen y Kacmaz, 2011; Kök-Taş <i>et al.</i> , 2012
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	Simova <i>et al.</i> , 2002
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>pseudopantarum</i>	Simova <i>et al.</i> , 2002
<i>Lb. buchneri</i>	Kesmen y Kacmaz, 2011
<i>Lb. sunkii</i>	Kesmen y Kacmaz, 2011
<i>Lb. otakiensis</i>	Kesmen y Kacmaz, 2011
<i>Lb. diolivorans</i>	Kesmen y Kacmaz, 2011
<i>Lb. crispatus</i>	Kök-Taş <i>et al.</i> , 2012
<i>Lb. reuteri</i>	Kök-Taş <i>et al.</i> , 2012
<i>Lb. Leuconostoc (Leu.) mesenteroides</i>	Zhou <i>et al.</i> , 2009; Kesmen y Kacmaz, 2011; Leite <i>et al.</i> , 2013
<i>Lb. Leu. pseudomesenteroides</i>	Kesmen y Kacmaz, 2011
Bacterias ácido acéticas	
<i>Lb. Acetobacter lovaniensis</i>	Leite <i>et al.</i> , 2013; Korsak <i>et al.</i> , 2015
<i>Lb. Acetobacter syzygii</i>	Cruz Pedrozo Miguel <i>et al.</i> , 2010
<i>Lb. Acetobacter orientalis</i>	Korsak <i>et al.</i> , 2015
<i>Lb. Gluconobacter japonicus</i>	Cruz Pedrozo Miguel <i>et al.</i> , 2010
<i>Lb. Gluconobacter frateurii</i>	Korsak <i>et al.</i> , 2015
Levaduras	
<i>Lb. Saccharomyces (S.) cerevisiae</i>	Simova <i>et al.</i> , 2002; Zhou <i>et al.</i> , 2009; Leite <i>et al.</i> , 2013
<i>Lb. S. martiniae</i>	Zhou <i>et al.</i> , 2009
<i>Lb. S. unisporus</i>	Wyder <i>et al.</i> , 1997; Zhou <i>et al.</i> , 2009
<i>Lb. Candida humilis</i>	Zhou <i>et al.</i> , 2009
<i>Lb. Candida inconspicua</i>	Simova <i>et al.</i> , 2002
<i>Lb. Candida maris</i>	Simova <i>et al.</i> , 2002
<i>Lb. Candida kefir</i>	Wyder <i>et al.</i> , 1997
<i>Lb. Candida colliculosa</i>	Wyder <i>et al.</i> , 1997
<i>Lb. Kluyveromyces (Klu.) marxianus</i>	Wyder <i>et al.</i> , 1997; Teixeira <i>et al.</i> , 2010; Kök-Taş <i>et al.</i> , 2012
<i>Lb. Klu. siamensis</i>	Zhou <i>et al.</i> , 2009
<i>Lb. Klu. lactis</i>	Zhou <i>et al.</i> , 2009
<i>Lb. Klu. Dobzhanskii</i>	Kök-Taş <i>et al.</i> , 2012
<i>Lb. Kazachantania (Kaz.) unispora</i>	Zhou <i>et al.</i> , 2009; Teixeira <i>et al.</i> , 2010
<i>Lb. Kaz. exigua</i>	Zhou <i>et al.</i> , 2009
<i>Lb. Torulospora delbrueckii</i>	Wyder <i>et al.</i> , 1997
<i>Lb. Brettanomyces anomalus</i>	Wyder <i>et al.</i> , 1997

proteasas extracelulares, permeasas de di, tri y oligopéptidos y múltiples peptidasas intracelulares (Kunji, 1996). De acuerdo a Dallas *et al.* (2016), el sistema proteolítico de los granos de kéfir es capaz de hidrolizar las proteínas lácteas y liberar 1591 péptidos. Esto demostró la gran actividad proteolítica que presentan estos microorganismos, lo que aumenta la biodisponibilidad de fuentes de nitrógeno y posibilita la existencia de péptidos con actividad biológica.

La Leche como Sustrato para la Elaboración de Kéfir

La leche es un alimento completo dado que provee óptimamente los nutrientes que el neonato bovino requiere (Nongonierma y FitzGerald, 2015; Séverin y Wenshui, 2005). A nivel mundial, la leche bovina es la más consumida. La composición química de este tipo de leche (Claeys *et al.*, 2014) incluye lactosa (44-56g·l⁻¹), lípidos (33-54g·l⁻¹), proteínas (30-39g·l⁻¹) y minerales (7-8g·l⁻¹). Estos valores varían en función de la nutrición y la etapa de lactancia de los animales, principalmente (Séverin y Wenshui, 2005).

La leche, por sí misma, es una fuente rica en componentes bioactivos que influyen positivamente en la salud; por ejemplo, se ha reportado que los oligosacáridos presentes en la leche son capaces de modular tanto la microbiota intestinal, como la respuesta inmune (Mills *et al.*, 2011). Asimismo, la proteína lactoferrina está considerada como un relevante agente antimicrobiano (Möller *et al.*, 2008). Además, las proteínas de la leche están consideradas como la principal fuente de péptidos con actividad biológica cuando son sometidas a procesos fermentativos (Séverin y Wenshui, 2005).

Los péptidos con actividad biológica o 'bioactivos' son secuencias de aminoácidos, liberados de la estructura nativa de las proteínas, caracterizados por generar un efecto biológico medible a nivel fisiológico, que pueden impactar benéficamente a la salud. Comúnmente, la hidrólisis de las proteínas lácteas representa un pre-requisito para la generación de péptidos bioactivos (Hernández-Ledesma *et al.*, 2014). Esta transformación puede llevarse a cabo mediante procesos tales como la digestión gastrointestinal de la leche, la actividad proteolítica de los cultivos iniciadores, como lo pueden ser granos de kéfir durante la fermentación o la actividad de enzimas comerciales (Korhonen y Pihlanto, 2006). Las secuencias peptídicas resultantes pueden presentar características estructurales químicas similares a las de los péptidos endógenos que actúan en el organismo como hormonas, neurotransmisores

o reguladores (Hernández-Ledesma *et al.*, 2014). Estudios previos han demostrado la capacidad de los péptidos derivados de las proteínas lácteas para ejercer beneficios en los sistemas cardiovascular, inmunológico, digestivo, endócrino y nervioso (Korhonen, 2009; Hernández-Ledesma *et al.*, 2014; Nongonierma y FitzGerald, 2015). Sin embargo, es necesario aislar e identificar nuevos péptidos bioactivos mediante novedosas técnicas peptidómicas que coadyuven en la prevención y el tratamiento de enfermedades, así como investigar sus mecanismos de acción.

El Kéfir como Bebida Multifuncional

Diversos estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado la capacidad que tiene el kéfir para promover la salud a través de la presencia de péptidos bioactivos. Múltiples bioactividades de esta bebida tales como antihipertensiva, antimicrobiana, inmunomoduladora, acarreadora de minerales, antitrombótica, opioide y antioxidante han sido las más reportadas (Saavedra *et al.*, 2013). Estas características del kéfir, aunadas a las propiedades pre y probiótica, hipocolesterolémica, a la biodisponibilidad de los componentes de la leche con actividad biológica y a la presencia de metabolitos tales como ácidos orgánicos y bacteriocinas, lo sitúan de manera destacada como alimento funcional (Guzel-Seydim *et al.*, 2011). Es decir, un alimento que más allá del aporte nutricional de sus componentes, ha demostrado beneficiar una o más funciones fisiológicas del organismo, mejorando el estado de salud, bienestar y/o reducir el riesgo a padecer enfermedades (Diplock *et al.*, 1999).

Bioactividad multifuncional del kéfir

Múltiples bioactividades multifuncionales del kéfir han sido repor-

tadas recientemente (De Montijo-Prieto *et al.*, 2015; Fahmy y Ismail, 2015; Wang *et al.*, 2015a; Fiorda *et al.*, 2016; Miao *et al.*, 2016a). Las bioactividades antioxidante, antihipertensiva, hipocolesterolémica, antimicrobiana, antiinflamatoria y antitumoral de esta bebida han sido las más exploradas en los últimos años (Figura 2).

Bioactividad antioxidante

La bioactividad antioxidante está relacionada con diversas funciones orgánicas que favorecen la buena salud (Chen *et al.*, 2015). Las proteínas de origen lácteo han demostrado poseer fracciones peptídicas capaces de atenuar el estrés oxidativo (Sarmadi e Ismail, 2010; Tarango-Hernández *et al.*, 2015). Diversos estudios han demostrado que la microbiota de los granos de kéfir inoculados en la leche liberan péptidos con propiedades antioxidantes (Ahmed *et al.*, 2013; Fiorda *et al.*, 2016). Ebner *et al.* (2015) reportaron por primera vez las secuencias peptídicas antioxidantes VYPF PGPIP, YQEPVLPVGRGPFPIIV y AR HPHPLSFM en el kéfir.

Por otro lado, en los últimos años se han aislado BAL de los granos de kéfir productoras de exopolisacáridos con potencial antioxidante (Wang *et al.*, 2015a, b). El exopolisacárido producido por el metabolismo de esta microbiota que tiene como sustrato a la leche se le denomina comúnmente kefirano, el cual está constituido por glucosa y galactosa (Nielsen *et al.*, 2014). Recientemente se encontró que la cepa *Lactobacillus plantarum* YW32, previamente aislada de granos de kéfir tibetano, produjo un exopolisacárido formado por manosa, fructosa, galactosa y glucosa. Este último mostró capacidad para minimizar la presencia de radicales hidroxilo y superóxido *in vitro* (Wang *et al.*, 2015b).

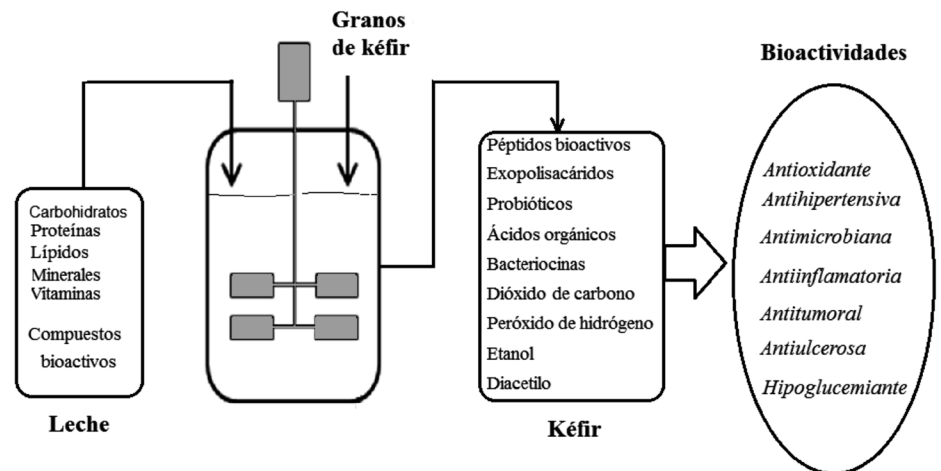


Figura 2. Producción y bioactividad multifuncional del kéfir.

En condiciones *in vivo*, el deterioro causado por las especies reactivas de oxígeno (ERO) es modulado por diversos mecanismos de defensa integrados por la actividad enzimática de la glutatión peroxidasa (GSH-Px), la glutatión S-transferasa (GST) y la catalasa (CAT). El efecto protector del kéfir contra el daño oxidativo causado por el tetracloruro de carbono (CCl₄) fue evaluado en ratones. Los resultados demostraron que los animales que ingirieron kéfir presentaron un efecto protector tisular ante el daño inducido por el CCl₄ (Güven *et al.*, 2003). Chen *et al.* (2015) caracterizaron un nuevo exopolisacárido con relevante capacidad antioxidante. Tradicionalmente esta actividad había estado asociada a secuencias peptídicas.

Bioactividad antihipertensiva

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, las enfermedades cardiovasculares representan la mayor causa de muerte a nivel global (OMS, 2014). Asimismo, aterosclerosis e hipertensión representan patologías consideradas como factores de riesgo para el desarrollo de estas enfermedades (Hui *et al.*, 2012). En este sentido, la bioactividad antihipertensiva ejercida por péptidos liberados a partir de los sistemas enzimáticos microbianos ha motivado el interés de la comunidad científica en los últimos años (Hernández-Ledesma *et al.*, 2011; Torres-Llanez *et al.*, 2011; Rodríguez-Figueroa *et al.* 2012; Dallas *et al.*, 2016).

Recientemente, Dallas *et al.* (2016) encontraron más de 1500 péptidos, productos de la actividad proteolítica de la microbiota de los granos de kéfir sobre las proteínas de la leche de vaca. Asimismo, estudios previos identificaron 257 péptidos; 12 de ellos fueron caracterizados previamente como antihipertensivos en otras fuentes e identificados por primera vez en el kéfir (Ebner *et al.*, 2015). Quirós *et al.* (2005) encontraron 16 péptidos antihipertensivos en kéfir comercial elaborado con leche de cabra. Estas secuencias peptídicas provenían de las fracciones proteicas α_{s1} , α_{s2} , β y κ -caseínas. Las secuencias PYVRYL y LVYPFTGPIPN mostraron la mayor bioactividad antihipertensiva *in vitro*.

La bioactividad antihipertensiva ha sido escasamente investigada *in vivo*. Contreras *et al.* (2009) evaluaron los cambios en la presión arterial asociados a la dosificación de la secuencia YQKFPQY proveniente de la fracción α_{s2} -caseína. Esta secuencia disminuyó la alta presión arterial de las ratas espontáneamente hipertensas (SHR), y recientemente fue identificada en el kéfir (Ebner *et al.*, 2015).

De la misma forma, Kuwabara *et al.* (1995) encontraron que la ingesta de una bebida láctea fermentada similar al kéfir redujo en 89 \pm 11mm Hg la presión arterial sistólica en este modelo animal. La magnitud de este efecto hipotensivo posiblemente estuvo relacionada no solo con las secuencias peptídicas derivadas de las fracciones proteicas de la leche, sino que también pudo deberse a la presencia de exopolisacáridos solubles en agua generados durante la fermentación. Sin embargo, es posible que los exopolisacáridos pudieran ejercer el mismo mecanismo de inhibición competitiva que los péptidos. Maeda *et al.* (2004) reportaron que la ingesta del exopolisacárido kefirano disminuyó la presión arterial sistólica de ratas SHRSP/Hos en \sim 15mm Hg. El kefirano es un metabolito secundario generado por cepas de *Lactobacillus*, particularmente por *Lb. kefiranofaciens* presente en los granos de kéfir (Maeda *et al.*, 2003).

Bioactividad hipocolesterolémica

La hipercolesterolemia es un factor de riesgo que está asociado con aterosclerosis y enfermedades coronarias (Huang *et al.*, 2013a). Estudios previos han demostrado que las BAL podrían actuar como mediadores en la homeostasis del colesterol (St-Onge *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2013a). Sin embargo, aún no se ha dilucidado del todo la relación que podría existir entre el metabolismo del colesterol de las BAL y la consecuente disminución de colesterol sérico en individuos hipercolesterolémicos. Lewis y Burmeister (2005) seleccionaron una BAL, *Lactobacillus acidophilus*, capaz de metabolizar colesterol bajo diferentes condiciones *in vitro* usando pH de 1 y 5. Posteriormente, este probiótico fue evaluado en voluntarios hipercolesterolémicos. Los resultados mostraron que los voluntarios no disminuyeron la concentración de colesterol sérico. No se reportaron interacciones con la microbiota de los voluntarios.

La bioactividad hipocolesterolémica de las BAL presentes en los granos de kéfir ha sido poco estudiada en modelos *in vivo*. Huang *et al.* (2013b) aislaron las cepas *Lb. plantarum* LP09 y *Lb. plantarum* LP45 de esta microbiota y fueron incorporadas intragástricamente en ratas Sprague-Dawley. Paralelamente, los animales fueron alimentados con una dieta abundante en colesterol. Los efectos de la ingesta de las BAL fueron medidos a través del metabolismo lipídico. Los niveles de colesterol total, colesterol-LDL, triglicéridos e índice aterogénico disminuyeron en los animales que recibieron las BAL. Asimismo, Güven y Güven (2005)

experimentaron la suplementación de la dieta de conejos con kéfir y encontraron también un efecto hipocolesterolémico. Por otro lado, se incorporaron 500ml/día de kéfir comercial a la dieta de 13 hombres moderadamente hipercolesterolémicos. De acuerdo con los autores, en la selección de los voluntarios se consideró que no hubiera un historial de enfermedades cardiovasculares, diabetes, hipertensión, hipotiroidismo o hubieran sido tratados con medicamentos para disminuir el colesterol. La concentración de colesterol en el perfil lipídico sérico de los voluntarios no fue modificada. Los autores concluyeron que posiblemente la bioactividad hipolipídica pudiera estar asociada con el tipo y la concentración de las BAL presentes en los granos de kéfir (St-Onge *et al.*, 2002).

Bioactividad antimicrobiana

Ha sido demostrado que durante la elaboración de alimentos fermentados, las BAL pueden ejercer actividad antagonista contra microorganismos patógenos y asociados al deterioro. La actividad antimicrobiana de las BAL radica en la generación de metabolitos que establecen factores tales como aumento de la acidez del medio, biogeneración rápida de ácidos orgánicos, bacteriocinas, péptidos antimicrobianos, peróxido de hidrógeno, kefirano, etanol y diacetilo, además de bajo potencial redox y disminución del contenido de nutrientes (Reis *et al.*, 2012; Macuamule *et al.*, 2016; Miao *et al.*, 2016b).

Recientemente, un estudio metagenómico basado en la identificación bacteriana mediante la secuenciación del ARNr 16S confirmó la presencia de BAL en la microbiota de los granos de kéfir. Los resultados demostraron que el 99,9% de las bacterias pertenecían a la familia Lactobacillaceae (Dallas *et al.*, 2016). Este hallazgo maximiza la posibilidad de encontrar BAL que pudieran presentar actividad antimicrobiana en este consorcio. De hecho, la cepa *Lactobacillus paracasei* subesp. *tolerans* previamente aislada de granos de kéfir tibetanos fue identificada como productora de la bacteriocina Fl. Esta última mostró amplio rango de bioactividad antimicrobiana (Miao *et al.*, 2014) contra bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* y *Bacillus thuringiensis*), Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica* y *Shigella dysenteriae*) y hongos (*Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Rhizopus nigricans* y *Penicillium glaucum*).

Asimismo, Macuamule *et al.* (2016) reportaron que los metabolitos obtenidos tras 48h de fermentación de la leche con granos de kéfir inactivaron

10⁶ UFC/ml de *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin (BCG) Pasteur (ATCC 35734). De acuerdo con Liu y Lin (2000) el kéfir a las 32h de fermentación puede alcanzar concentraciones de ácido láctico y etanol de 1,6 ±0,3% y de 0,26%, respectivamente. Estos metabolitos secundarios juegan un papel preponderante en la actividad antimicrobiana.

El kéfir ha demostrado favorecer la actividad antimicrobiana en estudios *in vivo*. Pacientes infectados con *Helicobacter pylori* y con síntomas de dispepsia fueron tratados con la triple terapia (lansoprazole, amoxicilina y claritromicina) más kéfir o placebo. Los resultados mostraron que los pacientes que recibieron kéfir pudieron erradicar *H. pylori* en 28% más de los casos que el grupo control. Además, los pacientes que ingirieron kéfir argumentaron que los síntomas de diarrea, dolor de cabeza, náusea y dolor abdominal fueron menos frecuentes (Bekar *et al.*, 2011). Por otro lado, se evaluó la capacidad para prevenir la diarrea y la enterocolitis causada por *Clostridium difficile*. Este estudio se llevó a cabo en hámsteres, quienes bebieron *ad libitum* una mezcla de extractos de microorganismos previamente aislados de los granos de kéfir (*Lactococcus lactis* subesp. *lactis* CIDCA 8221, *Lactobacillus plantarum* CIDCA 83114, *L. kefir* CIDCA 8348, *Kluyveromyces marxianus* CIDCA 8154 y *Saccharomyces cerevisiae* CIDCA 8112) o el antibiótico clindamicina, en donde las bacterias y las levaduras tuvieron concentraciones de 10¹¹ y 10⁸ UFC/ml, respectivamente. Los resultados mostraron que solo los hámster que ingirieron el extracto de los microorganismos permanecieron vivos (Bolla *et al.*, 2013). Los autores no evaluaron el efecto de la dosificación de los extractos de los microorganismos en la microbiota intestinal de los hámsteres.

Bioactividad antiinflamatoria

Los microorganismos presentes en la microbiota de los granos de kéfir han sido asociados con la bioactividad antiinflamatoria. Por ejemplo, *Lactobacillus plantarum* C4 fue caracterizado como un potencial probiótico con efectos inmunomoduladores (Bujalance *et al.*, 2007). Asimismo, los efectos farmacológicos del kéfir han sido evaluados utilizando modelos animales. La cepa *Lb. plantarum* C4 resultó protectora ante la infección intestinal de *Yersinia enterocolitica* en ratones hembras BALB/c, incrementándose la producción de inmunoglobulinas (Ig) A (De Montijo-Prieto *et al.*, 2015). Por otra parte, la aplicación terapéutica del kéfir fue experimentada en

ratones asmáticos. La dosificación intragástrica del kéfir inhibió el incremento de la cuenta total de células inflamatorias inducidas por la ovoalbúmina. Además, se observó que citocinas tales como las interleucinas (IL)-4 e IL-13, así como los niveles de Ig E fueron reducidos a concentraciones normales. Estos hallazgos mostraron que el kéfir podría presentar efectos antiinflamatorios y antialérgicos (Lee *et al.*, 2007).

Bioactividad antitumoral

Se ha demostrado la capacidad inmuno-moduladora de las BAL aisladas de los granos de kéfir (Bujalance *et al.*, 2007; Hong *et al.*, 2009; Bourrie *et al.*, 2016). Hong *et al.* (2009) evaluaron la producción de citocinas pro-inflamatorias en células RAW 264.7 inducidas tanto por la leche fermentada con *Lactobacillus kefiranofaciens* M1, como por el sobrenadante. Ambos produjeron factor de necrosis tumoral (TNF)- α , IL-1 β , IL-6 e IL-12. Asimismo, Ghoneum y Gimzewski (2014) reportaron que las cepas *Lactobacillus kefir* P-IF, *Lb. kefir* P-B1, *Kazachstania turicensis*, *K. unisporea* and *Kluyveromyces marxianus* indujeron apoptosis en células HL60/AR. Este efecto fue asociado a la dosis.

El kéfir ha demostrado tener actividad antitumoral contra múltiples tipos de células cancerosas (Bourrie *et al.*, 2016). La viabilidad del kéfir para ejercer efecto antitumoral ha sido experimentada *in vivo*. De hecho, la ingesta *ad libitum* de kéfir retrasó el crecimiento de tumores en el modelo murino de cáncer de mama. Paralelamente se observó un incremento de la IL-10 en suero y un decremento de células IL-6(+) en las glándulas mamarias; estos hallazgos demuestran la capacidad moduladora del kéfir sobre la respuesta inmune en las glándulas mamarias y tumores (de Moreno de LeBlanc *et al.*, 2006). Es posible que cepas presentes en los granos de kéfir modifiquen el entorno a través del *quorum sensing* y con ello estimulen al sistema inmune. Thompson *et al.* (2015) demostraron que la señalización ejercida por bacterias como medio de comunicación fue capaz de regular la microbiota e influir en la salud del hospedero. De hecho, Todorov *et al.* (2007) reportaron que la cepa *Lactobacillus plantarum* ST8KF aislada de los granos de kéfir podría regular la presencia de *Listeria innocua* LMG 13568 a través de este mecanismo. No obstante, los compuestos químicos del kéfir así como la interacción de éstos con los modelos animales aún no han explicado con precisión los mecanismos de acción que inciden en esta bioactividad.

Bioactividades novedosas del kéfir

El consumo de kéfir está vinculado a numerosos beneficios que inciden en la salud (Urdaneta *et al.*, 2007; Chen *et al.*, 2012; Fahmy e Ismail, 2015). Fahmy e Ismail (2015) reportaron que la ingesta de kéfir por ratas Wistar previamente expuestas a rayos γ o a la inducción de úlceras gástricas con etanol, generó efectos comparables a los observados en las ratas Wistar que recibieron el fármaco antiulceroso, ranitidina.

El kéfir también está considerado como un probiótico por la presencia de múltiples microorganismos benéficos para el hospedero. El *Lactobacillus kefiranofaciens* M1 proveniente de granos de kéfir redujo el sangrado y el acotamiento del colon en ratones C57 BL/6 con colitis inducida. Además, se observaron cambios en la producción de citocinas; las pro-inflamatorias decrecieron mientras que las anti-inflamatorias incrementaron (Chen *et al.*, 2012).

Por otro lado, ratas Wistar que ingirieron kéfir durante 22 días mostraron bioactividades hipoglucemiante y enzimática intestinal, por lo que el kéfir podría beneficiar la digestión de las proteínas y reducir el índice glicémico (Urdaneta *et al.*, 2007). Asimismo, ratas Wistar con diabetes inducida fueron dosificadas con kéfir durante 56 días. Los resultados del perfil metabólico, la función renal y el estrés oxidativo demostraron una menor progresión de la enfermedad en los animales (Punaro *et al.*, 2014).

Las implicaciones del consumo de kéfir también han sido monitoreadas bajo condiciones de salud específicas. En este sentido, se estudió el efecto de la administración de kéfir durante la profilaxis de la osteoporosis utilizando ratas Sprague Dawley ovariectomizadas. Luego de 84 días del tratamiento se observaron incrementos en la densidad mineral trabecular ósea, engrosamiento trabecular y volumen óseo, así como en las propiedades biomecánicas del fémur distal (Chen *et al.*, 2014). Sin embargo, aún se desconocen los componentes químicos del kéfir que influyen en la regulación de las funciones orgánicas de los animales con esta enfermedad, así como los mecanismos de acción que intervienen.

Conclusión

El kéfir es una bebida láctea fermentada con bioactividad multifuncional. La leche utilizada como sustrato también representa una fuente de compuestos con actividad biológica. Asimismo, la diversidad de microorganismos simbióticos que integran la microbiota de los gra-

nos de kéfir genera una gran cantidad de metabolitos, tales como exopolisacáridos, ácidos orgánicos y bacteriocinas; además, libera péptidos con potencial bioactivo. Esto abre la posibilidad a mecanismos de señalización y regulación como lo es el *quorum sensing*. Diversos estudios han demostrado las bioactividades antioxidante, antihipertensiva, hipocolesterolémica, antimicrobiana, antiinflamatoria y antitumoral del kéfir. Sin embargo, existen bioactividades que han sido poco estudiadas como las propiedades fijadoras de minerales y la actividad antitrombótica. También son escasas las investigaciones sobre las interrelaciones sustrato-microorganismo-metabolito-bioactividad basado en estudios metagenómicos que permitan avanzar en el desarrollo de este producto. Por otro lado, es necesario incrementar los trabajos sobre la interacción de los componentes químicos presentes en esta bebida, así como los mecanismos de acción que tienen lugar *in vivo* beneficiando la salud. Una mayor experimentación servirá para establecer este conocimiento de frontera, permitirá el uso más racional de esta bebida e impactará su consumo.

REFERENCIAS

Ahmed Z, Wang Y, Ahmad A, Khan ST, Nisa M, Ahmad H, Afreen A (2013) Kefir and health: a contemporary perspective. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 53: 422-434.

Bekar O, Yilmaz Y, Gulden M (2011) Kefir improves the efficacy and tolerability of triple therapy in eradicating *Helicobacter pylori*. *J. Med. Food* 14: 344-347.

Bolla PA, Carasi P, Bolla M de los A, De Antoni GL, Serradell M de los A (2013) Protective effect of a mixture of kefir-isolated lactic acid bacteria and yeasts in a hamster model of *Clostridium difficile* infection. *Anaerobe* 21: 28-33.

Bourrie BC, Willing BP, Cotter PD (2016) The microbiota and health promoting characteristics of the fermented beverage kefir. *Front. Microbiol.* 7: 647. doi: 10.3389/fmicb.2016.00647

Bujalance C, Moreno E, Jimenez-Valera M, Ruiz-Bravo A (2007) A probiotic strain of *Lactobacillus plantarum* stimulates lymphocyte responses in immunologically intact and immunocompromised mice. *Int. J. Food Microbiol.* 113: 28-34.

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

Chen HL, Tung YT, Chuang CH, Tu MY, Tsai TC, Chang SY, Chen CM (2014) Kefir improves bone mass and microarchitecture in an ovariectomized rat model of postmenopausal osteoporosis. *Osteopor. Int.* 26: 589-599.

Chen YP, Hsiao PJ, Hong WS, Dai TY, Chen MJ (2012) *Lactobacillus kefirifaciens* M1 isolated from milk kefir grains ameliorates experimental colitis *in vitro* and *in vivo*. *J. Dairy Sci.* 95: 63-74.

Chen Z, Shi J, Yang X, Nan B, Liu Y, Wang Z (2015) Chemical and physical characteristics and antioxidant activities of the exopolysaccharide produced by Tibetan kefir grains during milk fermentation. *Int. Dairy J.* 43: 15-21.

Claeys WL, Verraes C, Cardoen S, De Block J, Huyghebaert A, Raes K, Herman L (2014) Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Contr.* 42: 188-201.

Contreras MM, Carrón R, Montero MJ, Ramos M, Recio I (2009) Novel casein-derived peptides with antihypertensive activity. *Int. Dairy J.* 19: 566-573.

Cruz Pedrozo Miguel, MG, Cardoso PG, Lago LA, Schwan RF (2010) Diversity of bacteria present in milk kefir grains using culture-dependent and culture-independent methods. *Food Res. Int.* 43: 1523-1528.

Dallas DC, Citerne F, Tian T, Silva VLM, Kalanetra KM, Frese SA, Barile D (2016) Peptidomic analysis reveals proteolytic activity of kefir microorganisms on bovine milk proteins. *Food Chem.* 197: 273-284.

De Montijo-Prieto S, Moreno E, Bergillos-Meca T, Lasserrot A, Ruiz-López MD, Ruiz-Bravo A, Jiménez-Valera M (2015) A *Lactobacillus plantarum* strain isolated from kefir protects against intestinal infection with *Yersinia enterocolitica* O9 and modulates immunity in mice. *Res. Microbiol.* 166: 626-632.

De Moreno de LeBlanc A, Matar C, Farnworth E, Perdigon G (2006) Study of cytokines involved in the prevention of a murine experimental breast cancer by kefir. *Cytokine* 34: 1-8.

Diplock AT, Aggett PJ, Ashwell M, Bornet F, Fern EB, Roberfroid MB (1999) Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus document. *Br. J. Nutr.* 8: S1-S27.

Dobson A, O'Sullivan O, Cotter PD, Ross P, Hill C (2011) High-throughput sequence-based analysis of the bacterial composition of kefir and an associated kefir grain. *FEMS Microbiol. Lett.* 320: 56-62.

Ebner J, Aşçı Arslan A, Fedorova M, Hoffmann R, Küçükçetin A, Pischetsrieder M (2015) Peptide profiling of bovine kefir reveals 236 unique peptides released from caseins during its production by starter culture or kefir grains. *J. Proteom.* 117: 41-57.

Fahmy HA, Ismail AFM (2015) Gastroprotective effect of kefir on ulcer induced in irradiated rats. *J. Photochem. Photobiol. B-Biol.* 144: 85-93.

Ferreira D, Abatemarco MJ, Cicco SH, Nicoli JR, Cantini AN, Neumann E (2015) Selection of lactic acid bacteria from Brazil kefir grains for potential use as a starter or probiotic cultures. *Anaerobe* 32: 70-76.

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

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

Ghoneum M, Gimzewski J (2014) Apoptotic effect of a novel kefir product, PFT, on multidrug-resistant myeloid leukemia cells via a hole-piercing mechanism. *Int. J. Oncol.* 44: 830-837.

Güven A, Güven A (2005) Hipercolesterolemi oluşturmamış tavsanlarda kefirin total kolesterol, trigliserit, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve lipid peroksidasyonu üzerine etkisi. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 11: 127-131.

Güven A, Güven A, Gülmez M (2003) The effect of kefir on the activities of GSH-Px, GST, CAT, GSH and LPO levels in carbon tetrachloride-induced mice tissues. *J. Vet. Med. Ser. B-Infect. Dis. Vet. Publ. Health* 50: 412-416.

Guzel-Seydim ZB, Kok-Tas T, Greene AK, Seydim AC (2011) Review: functional properties of kefir. *Crit. Rev. Food Sci.* 51: 261-268.

Hernández-Ledesma B., Contreras M, Recio I (2011) Antihypertensive peptides: production, bioavailability and incorporation into foods. *Adv. Coll. Interf. Sci.* 165: 23-35.

Hernández-Ledesma B, García-Nebot MJ, Fernández-Tomé S, Amigo L, Recio I (2014) Dairy protein hydrolysates: Peptides for health benefits. *Int. Dairy J.* 38: 82-100.

Hong WS, Chen HC, Chen YP, Chen MJ (2009) Effects of kefir supernatant and lactic acid bacteria isolated from kefir grain on cytokine production by macrophage. *Int. Dairy J.* 19: 244-251.

Huang Y, Wang X, Wang J, Wu F, Sui Y, Yang L, Wang Z (2013a) *Lactobacillus plantarum* strains as potential probiotic cultures with cholesterol-lowering activity. *J. Dairy Sci.* 96: 2746-2753.

Huang Y, Wu F, Wang X, Sui Y, Yang L, Wang J (2013b) Characterization of *Lactobacillus plantarum* Lp27 isolated from Tibetan kefir grains: a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *J. Dairy Sci.* 96: 2816-2825.

Hui X, Lam KS, Vanhoutte PM, Xu A (2012) Adiponectin and cardiovascular health: An update. *Br. J. Pharmacol.* 165: 574-590.

Kesmen Z, Kacmaz N (2011) Determination of Lactic Microflora of kefir grains and kefir beverage by using culture-dependent and culture-independent methods. *J. Food Sci.* 76: M276-M283.

Kök-Taş TK, Ekinci FY, Guzel-Seydim ZB (2012) Identification of microbial flora in kefir grains produced in Turkey using PCR. *Int. J. Dairy Technol.* 65: 126-131.

Korhonen H (2009) Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *J. Funct. Foods* 1: 177-187.

Korhonen H, Pihlanto A (2006) Bioactive peptides: Production and functionality. *Int. Dairy J.* 16: 945-960.

Korsak N, Taminiau B, Leclercq M, Nezer C, Crevecoeur S, Ferauche C, Daube G (2015) Evaluation of the microbiota of kefir samples using metagenetic analysis targeting the 16S and 26S ribosomal DNA fragments. *J. Dairy Sci.* 98: 3684-3689.

Kunji ERS (1996) The proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Ant. v. Leeuw. Int. J. Gen. Molec. Microbiol.* 70: 187-221.

Kuwabara Y, Nagai S, Yoshimitsu N, Nakagawa I, Watanabe Y, Tamai Y (1995) Antihypertensive effect of the milk fermented by

- culturing with various lactic-acid bacteria and a yeast. *J. Ferm. Bioeng.* 80: 294-295.
- Lee MY, Ahn KS, Kwon OK, Kim MJ, Kim MK, Lee IY, Lee HK (2007) Anti-inflammatory and anti-allergic effects of kefir in a mouse asthma model. *Immunobiology* 212: 647-654.
- Leite AMO, Leite DCA, Del Aguil EM, Alvares TS, Peixoto RS, Miguel MAL, Paschoalin VMF (2013) Microbiological and chemical characteristics of Brazilian kefir during fermentation and storage processes. *J. Dairy Sci.* 96: 4149-4159.
- Lewis SJ, Burmeister S (2005) A double-blind placebo-controlled study of the effects of *Lactobacillus acidophilus* on plasma lipids. *Eur. J. Clin. Nutr.* 59: 776-780.
- Liu JR, Lin CW (2000) Production of kefir from soymilk with or without added glucose, lactose, or sucrose. *J. Food Sci.* 65: 716-719.
- Macuamule CLS, Wiid IJ, van Helden PD, Tanner M, Witthuhn RC (2016) Effect of milk fermentation by kefir grains and selected single strains of lactic acid bacteria on the survival of *Mycobacterium bovis* BCG. *Int. J. Food Microbiol.* 217: 170-176.
- Maeda H, Zhu X, Mitsuoka T (2003) New medium for the production of exopolysaccharide (OSKC) by *Lactobacillus kefirifaciens*. *Biosci. Microflora* 22: 45-50.
- Maeda H, Zhu X, Suzuki S, Suzuki K, Kitamura S (2004) Structural characterization and biological activities of an exopolysaccharide kefir produced by *Lactobacillus kefirifaciens* WT-2B(T). *J. Agric. Food Chem.* 52: 5533-5538.
- Marsh AJ, O'Sullivan O Hill C, Ross RP, Cotter PD (2013) Sequencing-based analysis of the bacterial and fungal composition of kefir grains and milks from multiple sources. *PLoS ONE* 8(7), e69371.
- Marsh AJ, Hill C, Ross RP, Cotter PD (2014) Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. *Trends Food Sci. Tech.* 38: 113-124.
- Miao J, Guo H, Ou Y, Liu G, Fang X, Liao Z, Cao Y (2014) Purification and characterization of bacteriocin F1, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* FX-6 from Tibetan kefir, a traditional fermented milk from Tibet, China. *Food Contr.* 42: 48-53.
- Miao J, Guo H, Chen F, Zhao L, He L, Ou Y, Huang Q (2016a) Antibacterial effects of a cell-penetrating peptide isolated from kefir. *J. Agric. Food Chem.* 64: 3234-3242.
- Miao J, Liu G, Ke C, Fan W, Li C, Che Y, Xiao H (2016b) Inhibitory effects of a novel antimicrobial peptide from kefir against *Escherichia coli*. *Food Contr.* 65: 63-72.
- Mills S, Ross RP, Hill C, Fitzgerald GF, Stanton C (2011) Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. *Int. Dairy J.* 21: 377-401.
- Möller NP, Scholz-Ahrens KE, Jürgen-Schreze NR (2008) Bioactive peptides and proteins from food: indication for health effects. *Eur. J. Nutr.* 47: 171-182.
- Nielsen B, Gürakan GC, Ünlü G (2014) Kefir: A multifaceted fermented dairy product. *Probiot. Antimicrob. Prot.* 6: 123-135.
- Nongonierma AB, FitzGerald RJ (2015) The scientific evidence for the role of milk protein-derived bioactive peptides in humans: A Review. *J. Funct. Foods* 17: 640-656.
- OMS (2014) *The Top 10 Causes of Death*. Organización Mundial de la Salud. Ginebra, Suiza. www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/
- Punaro GR, Maciel FR, Rodrigues AM, Rogero MM, Bogsan CSB, Oliveira MN, Higa EMS (2014) Kefir administration reduced progression of renal injury in STZ-diabetic rats by lowering oxidative stress. *Nitric Ox.* 37: 53-60.
- Quirós A, Hernández-Ledesma B, Ramos M, Amigo L, Recio I (2005) Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of peptides derived from caprine kefir. *J. Dairy Sci.* 88: 3480-3487.
- Reis JA, Paula AT, Casarotti SN, Penna ALB (2012) Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: Characteristics and applications. *Food Eng. Rev.* 4: 124-140.
- Rodríguez-Figueroa JC, González-Córdova AF, Torres-Llanez, MJ, Garcia HS, Vallejo-Cordoba B (2012) Novel angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides produced in fermented milk by specific wild *Lactococcus lactis* strains. *J. Dairy Sci.* 95: 5536-5543.
- Saavedra L, Hebert EM, Minahk C, Ferranti P (2013) An overview of "omic" analytical methods applied in bioactive peptide studies. *Food Res. Int.* 54: 925-934.
- Santos A, San Mauro M, Sanchez A, Torres JM, Marquina D (2003). The antimicrobial properties of different strains of *Lactobacillus* spp. isolated from kefir. *Systemat. Appl. Microbiol.* 26: 434-437.
- Sarmadi BH, Ismail A (2010) Antioxidative peptides from food proteins: a review. *Peptides* 31: 1949-1956.
- Satir G, Guzel-Seydim ZB (2015) Influence of kefir fermentation on the bioactive substances of different breed goat milks. *LWT - Food Sci. Technol.* 63: 852-858
- Satir G, Guzel-Seydim ZB (2016) How kefir fermentation can affect product composition? *Small Rum. Res.* 134: 1-7.
- Séverin S, Wenshui X (2005) Milk biologically active components as nutraceuticals: review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45: 645-656.
- Simova E, Beshkova D, Angelov A, Hristozova T, Frengova G, Spasov Z (2002) Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *J. Indust. Microbiol. Biotechnol.* 28: 1-6.
- St-Onge MP, Farnworth ER, Savard T, Chabot D, Mafu A, Jones PJH (2002) Kefir consumption does not alter plasma lipid levels or cholesterol fractional synthesis rates relative to milk in hyperlipidemic men: a randomized controlled trial. *BMC Complem. Altern. Med.* 2, 1 [ISRCTN10820810].
- Tarango-Hernández S, Alarcón-Rojo AD, Robles-Sánchez M, Gutiérrez-Méndez N, Rodríguez-Figueroa J C (2015) Potential of Fresco-style cheese whey as a source of protein fractions with antioxidant and angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activities. *J. Dairy Sci.* 98: 7635-7639.
- Teixeira MK, Pereira MA, Nicolau A, Dragone G, Domingues L, Teixeira JA, Schwan RF (2010) Production of fermented cheese whey-based beverage using kefir grains as starter culture: Evaluation of morphological and microbial variations. *Bioresource Technol.* 101: 8843-8850.
- Thompson JA, Oliveira RA, Djukovic A, Ubeda C, Xavier KB (2015) Manipulation of the quorum sensing signal AI-2 affects the antibiotic-treated gut microbiota. *Cell Reports*, 10: 1861-1871.
- Todorov SD, Powell JE, Meincken M, Witthuhn RC, Dicks LMT (2007) Factors affecting the adsorption of *Lactobacillus plantarum* bacteriocin bacST8KF to *Enterococcus faecalis* and *Listeria innocua*. *Int. J. Dairy Technol.* 60: 221-227.
- Torres-Llanez MJ, González-Córdova AF, Hernandez-Mendoza A, Garcia HS, Vallejo-Cordoba B (2011) Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in Mexican Fresco cheese. *J. Dairy Sci.* 94: 3794-3800.
- Urdaneta E, Barrenetxe J, Aranguren P, Irigoyen A, Marzo F, Ibáñez FC (2007) Intestinal beneficial effects of kefir-supplemented diet in rats. *Nutr. Res.* 27: 653-658.
- Wang J, Zhao X, Tian Z, Yang Y, Yang Z (2015a) Characterization of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW11 isolated from Tibet Kefir. *Carbohydr. Polym.*, 125: 16-25.
- Wang J, Zhao X, Yang Y, Zhao A, Yang Z (2015b) Characterization and bioactivities of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW32. *Int. J. Biol. Macromol.* 74: 119-126.
- Wyder MT, Spillmann H, Puhani Z (1997) Investigation of the yeast flora in dairy products: a case study of kefir. *Food Technol. Biotechnol.* 36: 299-330.
- Zhou J, Liu X, Jiang H, Dong M (2009) Analysis of the microflora in Tibetan kefir grains using denaturing gradient gel electrophoresis. *Food Microbiol.* 26: 7707755.

ADVANCES IN THE STUDY OF THE MULTIFUNCTIONAL BIOACTIVITY OF KEFIR

José Carlos Rodríguez-Figueroa, Juan Antonio Noriega-Rodríguez, Armando Lucero-Acuña and Armando Tejeda-Mansir

SUMMARY

Kefir is a fermented milk beverage with multifunctional bioactivity. This beverage is made by inoculating kefir grains in milk, which also represents a source of compounds with biological activity. The microbiota of kefir grains consists mainly of yeasts, bifidobacterium, and lactic and acetic acid bacteria. These symbiotic microorganisms generate metabolites such as exopolysaccharides, organic acids and bacteriocins; furthermore, they release peptides with potential bioactivity. The re-

sulting peptide sequences may have chemical structures similar to endogenous peptides which act in the body as hormones, neurotransmitters, or regulators. Recent in vitro and in vivo studies have shown that kefir has multiple bioactivities, e.g., antioxidant, antihypertensive, hypocholesterolemic, antimicrobial, anti-inflammatory, hypoglycemic and antitumoral. This review presents the advances related to microbiota composition, health benefits and perspectives of kefir studies.

AVANÇOS NO ESTUDO DA BIOATIVIDADE MULTIFUNCIONAL DO KEFIR

José Carlos Rodríguez-Figueroa, Juan Antonio Noriega-Rodríguez, Armando Lucero-Acuña e Armando Tejeda-Mansir

RESUMO

O kefir é uma bebida láctea fermentada com bioatividade multifuncional. Esta bebida é elaborada inoculando grãos de kefir no leite, que por sua vez representa uma fonte de compostos com atividade biológica. A microbiota dos grãos de kefir está constituída principalmente por leveduras, bifidobactérias e bactérias ácido lácticas e ácido acéticas. Estes microrganismos simbióticos geram metabolitos tais como exopolissacarídeos, ácidos orgânicos e bacteriocinas; além disso, liberam peptídeos com potencial bioativo. As sequências peptídicas resul-

tantes podem apresentar estruturas químicas similares às dos peptídeos endógenos que atuam no organismo como hormonas, neurotransmissores ou reguladores. Estudos recentes in vitro e in vivo têm demonstrado que o kefir possui múltiplas bioatividades, ex., antioxidante, anti-hipertensiva, hipocolesterolêmica, antimicrobiana, anti-inflamatória hipoglicemiante e antitumoral. Nesta revisão se apresentam os avanços alcançados a respeito da composição da microbiota, os benefícios à saúde e futuras perspectivas de estudo do kefir.