

FERMENTACIÓN DE JUGOS Y BEBIDAS A BASE DE FRUTAS

Luciana G. Ruíz Rodríguez

rrlucianag@hotmail.com

• CERELA-CONICET, Chacabuco 145, 4000. San Miguel de Tucumán, Argentina

Lucía Mendoza

lmendoza@cerela.org.ar

• CERELA-CONICET, Chacabuco 145, 4000. San Miguel de Tucumán, Argentina

Carina Van Nieuwenhove

carina@cerela.org.ar

• CERELA-CONICET, Chacabuco 145, 4000. San Miguel de Tucumán, Argentina

• Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán, San Miguel de Tucumán, 4000.

Micaela Pescuma

pescuma@cerela.org.ar

• CERELA-CONICET, Chacabuco 145, 4000. San Miguel de Tucumán, Argentina

Fernanda Mozzi

fmozzi@cerela.org.ar

• CERELA-CONICET, Chacabuco 145, 4000. San Miguel de Tucumán, Argentina

RESUMEN

Las frutas constituyen una fuente de carbohidratos, ácidos, minerales, polifenoles, vitaminas hidrosolubles (vitamina C y del grupo B), provitamina A, aminoácidos, compuestos aromáticos, carotenoides, fibras, fitoesteroles y otras sustancias bioactivas en la dieta humana. Estos compuestos pueden prevenir patologías crónicas, cáncer, mortalidad prematura, enfermedades coronarias y disminuir el riesgo de accidente cerebrovascular. Las frutas se consumen frescas o mínimamente procesadas y tienen una vida útil corta ya que son susceptibles al deterioro microbiano. La fermentación láctica es una tecnología simple, sostenible y

de bajo costo para mantener y/o mejorar las propiedades nutricionales y sensoriales de las materias primas y extender la vida útil de las frutas bajo condiciones de seguridad sanitaria. La fermentación por bacterias lácticas (BAL) puede contribuir al aroma y sabor de los jugos, así como incrementar la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos presentes en la fruta potenciando su actividad antioxidante. Además, los jugos pueden ser fermentados por bacterias probióticas que contribuyan con la seguridad por medio de la producción de metabolitos antagónicos (bacteriocinas, peróxido, etc.) o tengan un efecto inmunomodulador sobre el huésped. De esta manera, los jugos de fruta podrían ser una fuente de probióticos para veganos o personas intolerantes a la lactosa. El jugo fermentado de fruta más ampliamente consumido es el vino; esta bebida alcohólica es el resultado de interacciones complejas entre levaduras, bacterias y las condiciones físico-químicas del mosto de la uva. Al consumo moderado de vino tinto se le han atribuido diversos efectos benéficos para la salud, siendo el resveratrol el compuesto fenólico más estudiado y popularmente conocido. Las BAL intervienen en la fermentación maloláctica durante el proceso de vinificación disminuyendo la acidez de los vinos, fermentación que también permite mejorar las características aromáticas del producto a través del metabolismo de ácidos orgánicos, carbohidratos, polisacáridos, aminoácidos y la producción de enzimas como glicosidasas, estererasas y proteasas, que generan compuestos volátiles que modifican el flavor del producto final. El desarrollo de bebidas frutales fermentadas no-alcóholicas en nuestro país constituye un área de vacancia científico-tecnológica. La posibilidad de producir un sinergismo entre el metabolismo de las BAL y los compuestos bioactivos de las frutas, dirigido a la producción de bebidas con metabolitos bioactivos de mayor biodisponibilidad y/o funcionalidad representa un desafío para el desarrollo de nuevos alimentos fermentados funcionales que incluya a consumidores con hábitos veganos o personas que poseen alergias alimenticias provocadas por alimentos lácteos o intolerancia a la lactosa.

I. LAS FRUTAS COMO ALIMENTO Y SUS EFECTOS BENÉFICOS PARA LA SALUD

La OMS promueve la alimentación saludable, basada en una dieta sana y equilibrada, como herramienta fundamental para prevenir la malnutrición y el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) y otros trastornos. Las frutas y verduras resultan componentes importantes dentro de lo que se considera una dieta saludable. Así, por ejemplo, en el portal de la OMS se informa que una ingesta insuficiente de estos alimentos es uno de los 10 factores principales de riesgo de mortalidad, siendo alrededor de 3,9 millones de muertes ocurridas en el año 2017 atribuibles al consumo insuficiente de frutas y verduras. La OMS recomienda una ingesta diaria de al menos 400 g o cinco porciones de una selección variada de frutas y verduras, lo que contribuiría a reducir el riesgo de desarrollar ECNT y a garantizar la incorporación diaria suficiente de fibra dietaria. El consumo estimado de frutas y verduras es variable en todo el mundo (100-450 g/día); de acuerdo con los últimos registros, en Argentina se consume un promedio de 1,9 porciones por día por habitante encontrándose lejos de la dosis recomendada de 5 porciones diarias que era alcanzada solo por el 4,9 % de la población [1, 2]. En el documento *Guías alimentarias para la población argentina* [1] se recomienda también el consumo diario de 5 porciones de frutas y verduras de diversos tipos y colores (700 g/día) incluyendo 2 o 3 frutas por día (300 g/día) preferentemente crudas y con cáscara priorizando aquellas de estación por su mayor calidad. Nuestro país ofrece una gran diversidad de frutas todo el año, incluyendo cítricos (limón, lima, naranja, mandarina y pomelo), uvas, pomáceas (manzana y pera), frutas de carozo (durazno, nectarina, ciruela y damasco), frutas tropicales (banana, palta y mango) y otras frutas (nuez, cereza, frutilla, arándano, higo), etc. Las frutas producidas se destinan para el consumo directo o bien para ser procesadas industrialmente (jugos, bebidas alcohólicas, deshidratadas, jarabes, aceites esencias, dulces y mermeladas) [1].

Las frutas como alimento constituyen una fuente de carbohidratos, ácidos, minerales, polifenoles, vitaminas hidrosolubles (vitamina C y del grupo B), provitamina A, aminoácidos, compuestos aromáticos, carotenoides, fibras, fitoesteroles y otras sustancias bioactivas en la dieta humana. El contenido de agua de las frutas oscila entre el 70 al 90 %. Las frutas no poseen grandes cantidades de lípidos en la pulpa y cáscara, aunque sí en sus semillas que en general, no son consumidas. El contenido de proteínas es variable; sin embargo, el aporte proteico a través de las frutas es escaso [3] (Tabla 1).

Tabla 1. Composición nutricional de algunas frutas mencionadas en este capítulo.

Valor cada 100 g	Unidad	An	Ar	C	D	G	Mz	My	MI	N	P	T	U
Agua	g	86	84,21	82,25	86,35	77,93	85,56	72,93	90,15	86,75	88,06	94,52	80,54
Valor energético	kcal	50	57	63	48	83	52	97	34	47	43	18	69
Valor energético	kJ	209	n.dt.	263	n.dt.	n.dt.	n.dt.	406	n.dt.	n.dt.	179	n.dt.	n.dt.
Proteínas	g	0,54	0,74	1,06	1,4	1,67	0,26	2,2	0,84	0,94	0,47	0,88	0,72
Lípidos totales	g	0,12	0,33	0,2	0,39	1,17	0,17	0,7	0,19	0,12	0,26	0,2	0,16
Cenizas	g	0,22	n.dt.	0,48	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,8	n.dt.	n.dt.	0,39	n.dt.	n.dt.
Carbohidratos	g	13,12	14,49	16,01	11,12	18,7	13,81	23,38	8,16	11,75	10,82	3,89	18,1
Fibra total	g	1,4	2,4	2,1	2	4	2,4	10,4	0,9	2,4	1,7	1,2	0,9
Azúcares totales	g	9,85	9,96	12,82	9,24	13,67	10,39	11,2	7,86	9,35	7,82	2,63	15,48
Sacarosa	g	5,99	n.dt.	0,15	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0	n.dt.	n.dt.
Glucosa	g	1,73	n.dt.	6,59	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	4,09	n.dt.	n.dt.
Fructosa	g	2,12	n.dt.	5,37	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	3,73	n.dt.	n.dt.
MINERALES													
Calcio	mg	13	6	13	13	10	6	12	9	40	20	10	10
Hierro	mg	0,29	0,28	0,36	0,39	0,3	0,12	1,6	0,21	0,1	0,25	0,27	0,36
Magnesio	mg	12	6	11	10	12	5	29	12	10	21	11	7
Fósforo	mg	8	12	21	23	36	11	68	15	14	10	24	20
Potasio	mg	109	77	222	259	236	107	348	267	181	182	237	191
Sodio	mg	1	1	0	1	3	1	28	16	0	8	5	2
Zinc	mg	0,12	0,16	0,07	0,2	0,35	0,04	0,1	0,18	0,07	0,08	0,17	0,07
Cobre	mg	0,11	0,057	0,06	0,078	0,158	0,027	0,086	0,041	0,045	0,045	0,059	0,127
Manganeso	mg	0,927	n.dt.	0,07	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,04	n.dt.	n.dt.
Selenio	µg	0,1	0,1	0	0,1	0,5	0	0,6	0,4	0,5	0,6	0	0,1
VITAMINAS													
Vitamina C	mg	47,8	9,7	7	10	10,2	4,6	30	36,7	53,2	60,9	13,7	3,2
Tiamina	mg	0,079	0,037	0,027	0,03	0,067	0,017	0	0,041	0,087	0,023	0,037	0,069
Riboflavina	mg	0,032	0,041	0,033	0,04	0,053	0,026	0,13	0,019	0,04	0,027	0,019	0,07
Niacina	mg	0,5	0,418	0,154	0,06	0,293	0,091	1,500	0,734	0,282	0,357	0,594	0,188
Ácido pantoténico	mg	0,213	n.dt.	0,199	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,191	n.dt.	n.dt.
Vitamina B-6	mg	0,112	0,052	0,049	0,054	0,075	0,041	0,1	0,072	0,06	0,038	0,08	0,086
Folatos totales	µg	18	6	4	9	38	3	14	21	30	37	15	2
Colina	mg	5,5	6	6,1	2,8	7,6	3,4	7,6	7,6	8,4	6,1	6,7	5,6
Vitamina A	µg	3	3	3	96	0	3	64	169	11	47	42	3
β-caroteno	µg	35	32	38	1.094	0	27	743	2.020	71	274	449	39
α-caroteno	µg	0	0	0	19	0	0	0	16	11	2	101	1
β-criptoxantina	µg	0	0	0	104	0	11	41	1	116	589	0	0
Vitamina A	IU	58	n.dt.	64	96	n.dt.	n.dt.	1.272	n.dt.	n.dt.	950	n.dt.	n.dt.

Valor cada 100 g	Unidad	An	Ar	C	D	G	Mz	My	MI	N	P	T	U
Licopeno	µg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.828	2.573	0
Luteína + zeaxantina	µg	0	80	85	89	0	29	0	26	129	89	123	72
Vitamina E (α-tocoferol)	mg	0,02	0,57	0,07	0,89	0,6	0,18	0,02	0,05	0,18	0,3	0,54	0,19
Vitamina K	µg	0,7	19,3	2,1	3,3	16,4	2,2	0,7	2,5	0	2,6	7,9	14,6

LÍPIDOS

Ácidos grasos saturados totales	g	0,009	0,028	0,038	0,027	0,12	0,028	0,059	0,051	0,015	0,081	0,028	0,054
Ácidos grasos monoinsaturados totales	g	0,013	0,047	0,047	0,17	0,093	0,007	0,086	0,003	0,023	0,072	0,031	0,007
Ácidos grasos poliinsaturados totales	g	0,04	0,146	0,052	0,077	0,079	0,051	0,411	0,081	0,025	0,058	0,083	0,048

AMINOÁCIDOS

Triptófano	g	0,005	n.dt.	0,009	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,008	n.dt.	n.dt.
Treonina	g	0,019	n.dt.	0,022	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,011	n.dt.	n.dt.
Isoleucina	g	0,019	n.dt.	0,02	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,008	n.dt.	n.dt.
Leucina	g	0,024	n.dt.	0,03	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,016	n.dt.	n.dt.
Lisina	g	0,026	n.dt.	0,032	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,025	n.dt.	n.dt.
Metionina	g	0,012	n.dt.	0,01	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,002	n.dt.	n.dt.
Fenilalanina	g	0,021	n.dt.	0,024	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,009	n.dt.	n.dt.
Tirosina	g	0,019	n.dt.	0,014	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,005	n.dt.	n.dt.
Valina	g	0,024	n.dt.	0,024	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,01	n.dt.	n.dt.
Arginina	g	0,019	n.dt.	0,018	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,01	n.dt.	n.dt.
Histidina	g	0,01	n.dt.	0,015	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,005	n.dt.	n.dt.
Alanina	g	0,033	n.dt.	0,026	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,014	n.dt.	n.dt.
Ácido aspártico	g	0,121	n.dt.	0,569	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,049	n.dt.	n.dt.
Ácido glutámico	g	0,079	n.dt.	0,083	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,033	n.dt.	n.dt.
Glicina	g	0,024	n.dt.	0,023	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,018	n.dt.	n.dt.
Prolina	g	0,017	n.dt.	0,039	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,01	n.dt.	n.dt.
Serina	g	0,035	n.dt.	0,03	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	n.dt.	0,015	n.dt.	n.dt.

An: ananá. **Ar:** arándano. **C:** cereza. **D:** damasco. **G:** granada. **Mz:** manzana. **My:** maracuyá. **MI:** melón. **N:** naranja. **P:** papaya. **T:** tomate. **U:** uva. **n.dt.:** no hay datos disponibles.

Fuente: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, Servicio de Investigación Agrícola, Base de Datos Nacional de Nutrientes.

Como se mencionó, las frutas y los vegetales se consumen normalmente frescos o mínimamente procesados ya sea enlatados, secos o como preparaciones de jugos, pastas, ensaladas, salsas y sopas. El jugo de frutas, cuya ingesta es muy común nuestra sociedad, es el contenido de líquido extraíble de las células o tejidos de las frutas. Se define como jugo fermentable pero no fermentado al obtenido por un proceso mecánico a partir de frutos maduros y sanos y conservado por medios físicos. El jugo puede ser turbio o transparente y puede ser adicionado o no con azúcares [3-5].

La ingesta de frutas contribuye a reducir el riesgo de diversas enfermedades principalmente debido a la presencia de compuestos bioactivos que son capaces de prevenir patologías crónicas, cáncer, mortalidad prematura, enfermedades coronarias y

disminuir el riesgo de accidente cerebrovascular. Los jugos de frutas tienen bajo contenido en sodio y potasio ayudando a mantener la presión arterial normal; su carencia en grasas es también beneficiosa para el sistema cardiovascular. Algunos informes indican que los jugos de frutas jugarían un papel importante en la desaceleración del progreso de la enfermedad de Alzheimer y el desarrollo de cáncer [6-8]. Debido al reconocimiento del valor nutricional de estas bebidas, su consumo se ha incrementado en las últimas décadas, aunque desafortunadamente la ingesta diaria es aún inferior a la dosis recomendada por la OMS y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) (www.who.int/; www.fao.org/) [5, 9].

II. DESAFÍOS A SUPERAR PARA INCREMENTAR EL CONSUMO DE FRUTAS

En general y también en nuestro país, existen distintos tipos de barreras que condicionan el consumo variado de frutas, como por ejemplo: i) económicas, debido al precio elevado de algunas frutas en relación con su alto valor nutritivo; ii) políticas, como la necesidad de mejoras en los contenidos de los currículum escolares referidos a la educación alimentaria nutricional, la falta de incentivos a la producción y la falta de regulación de la producción y distribución de alimentos saludables; y finalmente iii) físicas como la baja disponibilidad de frutas frescas en algunos ámbitos y lugares del país, su corta vida útil, el desperdicio y la estacionalidad, su conservación y preparación [1].

Las frutas tienen una vida útil corta porque son muy susceptibles al deterioro microbiano y a veces a la contaminación por microorganismos patógenos. Cada tipo de fruta proporciona un nicho único en términos de composición química, disponibilidad de nutrientes, microbiota competitiva que alberga y compuestos antagonistas naturales, y por lo tanto tiene una microbiota dominante característica (los conteos celulares varían entre 5 y 7 log UFC/g) [5, 9, 10]. Los altos niveles de carbohidratos y de actividad de agua resultan ideales para el crecimiento microbiano mientras que su bajo pH (2,0-4,5) las hace susceptibles al deterioro por hongos y levaduras, pero no por patógenos humanos. Así, los microorganismos tolerantes a ácidos y bajos valores de pH, como los hongos y las bacterias lácticas (BAL) forman parte de la microbiota autóctona de las frutas. Por otra parte, durante la elaboración de jugos y otros alimentos semi-procesados, las frutas están expuestas a numerosos microorganismos deteriorantes potenciales durante las distintas etapas del proceso productivo [11-14]. La pasteurización, la cocción y la adición de conservantes químicos son las principales opciones tecnológicas para garantizar la seguridad de estos alimentos; sin embargo, estos procesos pueden dar lugar a cambios fisicoquímicos y nutricionales indeseables. Para reducir estos inconvenientes, se han probado algunas tecnologías novedosas, como el procesamiento a alta presión hidrostática, campos eléctricos pulsados y radiación ionizante, nuevos sistemas de envasado y el uso de conservantes antimicrobianos naturales [5].

III. FERMENTACIÓN LÁCTICA DE FRUTAS COMO ALTERNATIVA DE PRESERVACIÓN Y DE VALOR AGREGADO

Ante la necesidad de conservar las frutas y sus jugos alterando mínimamente sus propiedades, surge la fermentación láctica como alternativa de biopreservación, una de las técnicas más antiguas para extender la vida útil de los alimentos perecederos [15]. Debido al incremento sostenido en la demanda de bebidas no lácteas de alto valor funcional; de alimentos y bebidas frescas, nutritivas, saludables y apetecibles; la tendencia actual al vegetarianismo y veganismo y la prevalencia de intolerancia a la lactosa, los jugos de frutas fermentados por BAL constituyen una alternativa prometedora para suplir las necesidades mencionadas.

La fermentación láctica es una tecnología simple y valiosa, un proceso sostenible y de bajo costo para mantener y/o mejorar las propiedades nutricionales y sensoriales de las materias primas y extender la vida útil de frutas y vegetales bajo condiciones de seguridad sanitaria. Los alimentos fermentados derivados de las fermentaciones lácticas han sido elaborados durante miles de años por su valor saludable y son aceptados por los consumidores sin restricciones. Los procesos de fermentación de alimentos presentan diversas ventajas: i) preservan y mejoran la seguridad de los alimentos debido principalmente a la formación de ácidos orgánicos (ácidos láctico, acético, fórmico, propiónico, etc.), etanol, etc., que inhiben patógenos y eliminan compuestos tóxicos; ii) mejoran su valor nutricional; y iii) conservan su calidad organoléptica. La biopreservación por fermentación láctica se debe principalmente a la síntesis de una amplia variedad de metabolitos antagónicos como ácidos orgánicos, dióxido de carbono, etanol, peróxido de hidrógeno y diacetilo, compuestos antifúngicos (ácidos grasos, ácido fenil-láctico), bacteriocinas y antibióticos (reuterociclina) por las BAL empleadas [5, 16, 17].

La fermentación de frutas puede ocurrir "espontáneamente" por la microbiota láctica autóctona presente en la materia prima como por ejemplo *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp. y *Pediococcus* spp. bajo condiciones favorables de anaerobiosis, actividad de agua, concentración de sal y temperatura. Sin embargo, el uso de cultivos iniciadores conteniendo, por ejemplo, cepas de *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. gasseri* y *Lb. acidophilus* confiere consistencia, fiabilidad, control y reproducibilidad en el proceso proporcionando productos finales estandarizados, seguros y de calidad constante [5, 15, 16, 18]. Sin embargo, el empleo de cultivos iniciadores en la elaboración de frutas y vegetales fermentados es todavía un área en desarrollo y de estudio reciente a diferencia de otros alimentos fermentados con matrices de origen animal como quesos y chacinados [19, 20].

El principal requisito que deben cumplir los cultivos iniciadores es la adaptación ambiental a las condiciones de estrés que presentan normalmente las matrices vegetales. La concentración de carbohidratos fermentables, el ambiente extremadamente ácido, la capacidad tamponante, la presencia de nutrientes no digeribles (fibra, inulina, fructooligosacáridos, etc.) y la presencia de factores antinutricionales y

compuestos inhibidores (taninos y compuestos fenólicos) son los principales factores ambientales que afectan el crecimiento y la acidificación de las BAL en las frutas. El uso de un número elevado de células en el cultivo iniciador (8,0-9,0 log UFC/mL) garantiza la higiene del producto y las eventuales propiedades probióticas de las BAL empleadas. La adaptación de las BAL a los ecosistemas de las diferentes frutas es muy variada entre especies y cepas y a pesar de la importancia que reviste este proceso, el metabolismo de adaptación y respuesta a dicho ecosistema ha sido muy poco estudiado en comparación con otros alimentos fermentados [5, 21].

El uso de cultivos iniciadores autóctonos seleccionados en la elaboración de alimentos fermentados garantiza mejores rendimientos en comparación con el empleo de cepas comerciales o alóctonas, o con procesos de fermentación espontánea, potenciando las propiedades nutricionales, sensoriales y reológicas de los productos fermentados y asegurando una vida útil prolongada. Así, el uso de cultivos iniciadores autóctonos en la fermentación de frutas permitiría preservar el color natural, firmeza, actividad antioxidante y otros compuestos promotores de la salud. Este efecto puede ser consecuencia de la modificación del perfil de ácidos orgánicos (síntesis de ácidos láctico y acético) y el metabolismo de aminoácidos libres. Todas estas modificaciones pueden tener repercusiones directas (pH) o indirectas (potencial redox) en enzimas responsables del pardeamiento endógeno y sobre las propiedades oxidativas y sensoriales (color, sabor y aroma) de las matrices vegetales. Por otra parte, el mantenimiento de una elevada viabilidad celular en la fase estacionaria de crecimiento en las condiciones ambientales de la matriz es un requisito que garantiza la prolongada vida útil de los productos fermentados especialmente en aquellos que contienen cultivos iniciadores funcionales. La selección de BAL para formular fermentos debería basarse principalmente en criterios tecnológicos, sensoriales y/o nutricionales [22]. Además, las BAL pertenecientes a nichos específicos podrían presentar rasgos metabólicos distintivos como resultado de adaptaciones al medio ambiente [23, 24].

A la fecha, se ha evaluado la aptitud de diversas frutas como materias primas para la elaboración de jugos de frutas fermentados y el uso de cultivos autóctonos en la fermentación de las mismas [25-28]. En matrices de origen vegetal, los cultivos autóctonos presentan las siguientes ventajas: i) rápida acidificación, ii) elevado crecimiento celular; iii) inhibición de microorganismos perjudiciales; iv) poder antioxidante; v) propiedades sensoriales y vi) mayor sobrevida [22, 29, 30].

Las bebidas y purés a base de frutas elaborados mediante fermentación controlada con BAL son productos relativamente nuevos que responden a la demanda de los consumidores de alimentos mínimamente procesados y/o funcionales, alternativos a los productos lácteos. El consumo de frutas fermentadas con BAL podría mejorar la nutrición humana mediante la ingesta equilibrada de vitaminas, minerales y carbohidratos y prevenir enfermedades según las propiedades probióticas que pudieran presentar los cultivos. Además, algunas de las frutas fermentadas contienen pigmentos coloreados como flavonoides, licopeno, antocianina, β -caroteno y glucosinolatos

que actúan como antioxidantes en el cuerpo pudiendo eliminar los radicales libres dañinos implicados en enfermedades degenerativas como el cáncer, la artritis y el envejecimiento [15, 22, 31].

IV. COMPUESTOS FENÓLICOS EN FRUTAS

La fermentación láctica de las frutas puede incidir sobre los diferentes componentes de la matriz, generando cambios o modificaciones en las estructuras de los compuestos, que pueden incrementar su biodisponibilidad y/o funcionalidad. Se destaca la incidencia del metabolismo microbiano sobre los compuestos fenólicos (CF), un grupo amplio de sustancias que presentan al menos un anillo fenólico en su estructura química, sustituido por uno o más grupos hidroxilos libres u ocupados por otra función química (grupos éter, éster o glicósido). Los CF pueden presentarse desde formas simples (ácidos fenólicos) a formas complejas de elevado peso molecular, asociados o conjugados con otras moléculas, como por ejemplo azúcares. Los CF se encuentran principalmente en las plantas, donde se forman como metabolitos secundarios (no asociados a su crecimiento) y son responsables de muchas de las propiedades sensoriales y funcionales de las frutas y vegetales. En general, se los clasifica en dos grandes grupos: i) flavonoides: antocianinas, flavonas, chalconas, favanoles, entre otros, y ii) no flavonoides: como los ácidos fenólicos derivados del ácido hidroxibenzoico e hidroxicinámico y estilbenos, principalmente. Estos compuestos son muy abundantes en las frutas y se encuentran mayormente en la cáscara y semillas, aunque también se presentan en la pulpa. Los CF son en parte los responsables del color, desde azul a rojo debido a las antocianinas, del aroma cuando se presentan como vinil derivados, y de la astringencia, principalmente por la presencia de taninos.

Los CF tienen diversos efectos benéficos para el hombre y constituyen uno de los compuestos bioactivos más importantes de las frutas. Entre las actividades biológicas se destacan: efecto hipoglucémico, hipolipidémico y antiinflamatorio, y elevada capacidad antioxidante [32-34]. Los antioxidantes son moléculas que inhiben la oxidación de otras moléculas y son de interés para el desarrollo de alimentos y nutracéuticos. La capacidad antioxidante determina el poder general de un compuesto para eliminar los radicales libres que son los causantes de la oxidación. Los fenoles son excelentes antioxidantes ya que presentan grupos hidroxilos en sus moléculas, estructura a la que se atribuye la elevada capacidad antioxidante de las frutas, por lo que se aconseja su consumo para prevenir la oxidación de las células durante la vida (envejecimiento celular).

La ingesta total promedio de CF es aproximadamente de 1 g/día, principalmente debido al consumo de frutas y vegetales, variando el tipo ingerido según la dieta. Se estima que la tercera parte de los CF consumidos corresponde a ácidos fenólicos y el resto a flavonoides, estos últimos muy abundantes en las frutas, principalmente en forma de antocianinas y flavanoles (catequinas y taninos condensados). Luego de la digestión gástrica e intestinal, la absorción de los CF ocurre principalmente en

el intestino delgado, donde los compuestos solubles son fácilmente hidrolizados y absorbidos en el duodeno. Sin embargo, muchos polifenoles tienen baja biodisponibilidad y no son absorbidos, especialmente los que se presentan como agliconas o glucósidos conjugados (ramnósidos o xilósidos de quercetina y galactósidos de quercetina) y los que están covalentemente unidos a polisacáridos o proteínas. Los flavonoides no absorbidos llegan al colon, donde la microbiota intestinal puede metabolizarlos gracias a diferentes enzimas, principalmente donde ocurre la deconjugación de los flavonoides liberando las agliconas. En este sentido, las BAL son también capaces de producir enzimas que metabolizan los diferentes CF de las frutas pudiendo liberar estructuras incrementando la biodisponibilidad y funcionalidad de estas sustancias.

IV.A. METABOLISMO DE LOS CF POR BAL

El efecto de los CF sobre las BAL depende del tipo de compuesto, de su concentración y de la cepa en estudio. Diversos trabajos estudiaron la influencia de los CF de la uva sobre las BAL y las bacterias acéticas del vino. García-Ruiz y colaboradores [35] evaluaron la adición de 18 CF de la uva sobre el crecimiento de *Oenococcus oeni*, *Lb. hilgardii* y *P. pentosaceus*, determinando que los flavonoles y estilbenos inhibían fuertemente el crecimiento, los ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos tenían un poder inhibitorio medio, mientras que los alcoholes (flavanol-3-ol) presentaban un poder inhibitorio mínimo. Otros autores determinaron que el ácido gálico no ejercía ningún efecto sobre el crecimiento de *Oenococcus* y *Pediococcus* [36] mientras que era un estimulante del crecimiento de otras BAL [37, 38]. El efecto positivo de los ácidos fenólicos sobre el crecimiento de *Lb. hilgardii* fue también informado por Campos y colaboradores [39]. La concentración de los CF también es un factor que incide en la respuesta del microorganismo; altas concentraciones de los ácidos p-cumárico, ferúlico y cafeico inhibieron el crecimiento de *Lb. collinoides* y *Lb. brevis*, mientras que bajas concentraciones de estos compuestos resultaron estimulantes [37]. Estos estudios demuestran la necesidad de evaluar el comportamiento de las cepas frente a los CF para determinar su potencial uso como cultivo iniciador en la fermentación de frutas. De hecho, algunas BAL pueden modificar, por medio de su metabolismo, los CF presentes en el medio y revertir su potencial inhibitorio.

Ciertos polifenoles pueden afectar la pared y membrana celular de los microorganismos, motivo por el cual son bioconvertidos mediante diferentes procesos enzimáticos hacia formas menos tóxicas, proceso conocido como detoxificación celular. Si bien los CF poseen propiedades biológicas *per se*, muchos compuestos producidos o derivados del metabolismo microbiano tienen mayor funcionalidad o impacto en el aroma y color de los alimentos. Las diferentes enzimas microbianas implicadas (descarboxilasas, glicosidasas, tanasas, reductasas, etc.) provocan cambios en el perfil de estos compuestos causando la liberación, transformación y/o formación de nuevos compuestos bioactivos.

Algunas BAL son capaces de romper las uniones complejas entre ciertos polifenoles, especialmente los que forman parte de la pared celular vegetal, liberando formas bioactivas y disponibles para su posterior absorción [40]. De esta manera, flavanoles glicosilados son hidrolizados mediante enzimas glicosidasas producidas por distintos microorganismos, liberando azúcares y agliconas. Los azúcares son empleados como fuente de carbono durante el metabolismo microbiano y las agliconas, son potentes antioxidantes, pueden ser posteriormente metabolizadas a otras formas bioactivas.

La fermentación láctica puede incrementar [41, 42] o disminuir [43, 44] los CF totales en el jugo de fruta fermentado, dependiendo de la cepa y la matriz utilizada. En la fermentación de jugo de manzana con la cepa *Lb. plantarum* ATCC 14917 durante 72 horas, se observó una disminución significativa (22%) en el contenido de CF totales, mientras que los flavonoides disminuyeron 35% quizás por una conversión a fenoles simples y a la despolimerización de compuestos de alto peso molecular sin alterar la actividad antioxidante [44].

Las antocianinas, uno de los CF más importantes involucrados en el color de los jugos de frutas pueden ser también metabolizados durante la fermentación láctica disminuyendo su contenido en el jugo fermentado [42]. Al respecto, se encontró que *Lb. plantarum*, una de las especies de lactobacilos más versátiles desde el punto de vista metabólico, era capaz de hidrolizar taninos presentes en el medio de cultivo por acción de las enzimas tanasas [45]. Este microorganismo fue capaz de incrementar la actividad antioxidante luego de 4-8 días de fermentación de una mezcla de jugos de manzana, pera y zanahoria [46]. Otros autores determinaron que la fermentación con *Lb. plantarum* produce no solo cambios en las propiedades fisicoquímicas sino también en la actividad antioxidante y compuestos volátiles del jugo fermentado de castañas de cajú, relacionando la mayor actividad antioxidante con la cantidad de taninos condensados, pero no con los hidrolizables [47]. Por otro lado, el jugo de manzana fermentado con *Lb. plantarum* ATCC 14917, una bacteria probiótica de referencia, mostró un incremento de algunos CF (ácido 5-O-cafeoilquinico, quercetina y floretilina) causando una mayor actividad antioxidante que en el jugo no fermentado [44]. La misma cepa utilizada para fermentar jugo de granada produjo un incremento en los CF totales y la actividad antioxidante luego de 24 horas de fermentación manteniéndose estable durante 28 días [41]. En un puré de arándanos fermentado con la cepa probiótica *Lb. rhamnosus* GG y una cepa de *Lb. plantarum* se observó un incremento significativo en la cantidad de CF totales (de 1066 a 4269 µg GAE/mL) y un descenso en las antocianinas (de 15 a 5 µg GAE/mL) [42]. En otro estudio usando jugo fermentado de cereza con diferentes BAL se determinó mayor bioconversión de los ácidos fenólicos (cafeico, cumárico y protocatéquico) durante la fermentación por cepas de *Lb. plantarum* comparado con cepas de *Lb. rhamnosus* y *Lb. paracasei* [48].

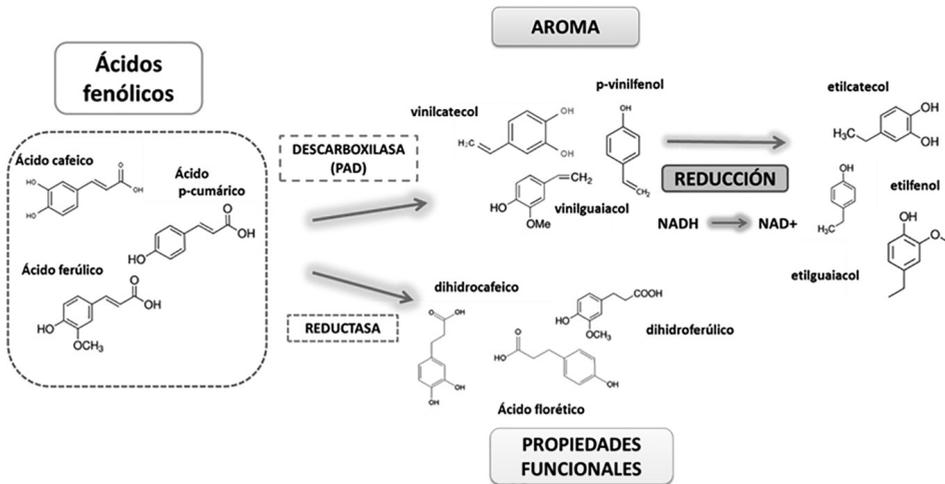
Como se mencionó anteriormente, la fermentación láctica no siempre conduce a un incremento en los CF totales de la bebida fermentada. Así, un jugo fermentado con una fruta originaria de Asia (*Diospyros lotus* L) con la cepa *Lb. plantarum* B7 mostró una disminución en los CF y un incremento de la actividad antioxidante [43].

Es importante destacar que, aunque disminuya el contenido de fenoles totales, la actividad antioxidante de la bebida fermentada puede no alterarse ya que se pueden formar productos derivados del metabolismo de las BAL con mayor poder antioxidante.

IV.B. METABOLISMO DE ÁCIDOS FENÓLICOS: UNA VENTAJA ENERGÉTICA

Los ácidos hidroxicinámicos son CF comunes en las plantas y poseen un ácido carboxílico funcional, siendo los ácidos cafeico, *p*-cumárico y ferúlico los más abundantes de frutas y verduras. Las BAL heterofermentativas, que obtienen menos energía que las homofermentativas a través de su metabolismo celular, pueden usar los ácidos fenólicos como aceptores externos de electrones y reoxidar el cofactor NADH a NAD⁺ durante el metabolismo de los ácidos hidroxicinámicos [49, 50]. Por otro lado, *Lb. plantarum*, una de las cepas más empleadas como cultivo iniciador de jugos de frutas, cuando crece en ausencia de aceptores de electrones reduce el 4-vinilfenol a 4-etilfenol para aumentar la formación de NAD⁺, confiriendo una ventaja energética a estos microorganismos (ver Figura 1). El vinil-fenol es un compuesto permitido para su incorporación en alimentos y se emplea generalmente como aromatizante de alimentos.

Figura 1. Metabolismo de los ácidos fenólicos por BAL heterofermentativas (adaptado de Filannino y col. [50])



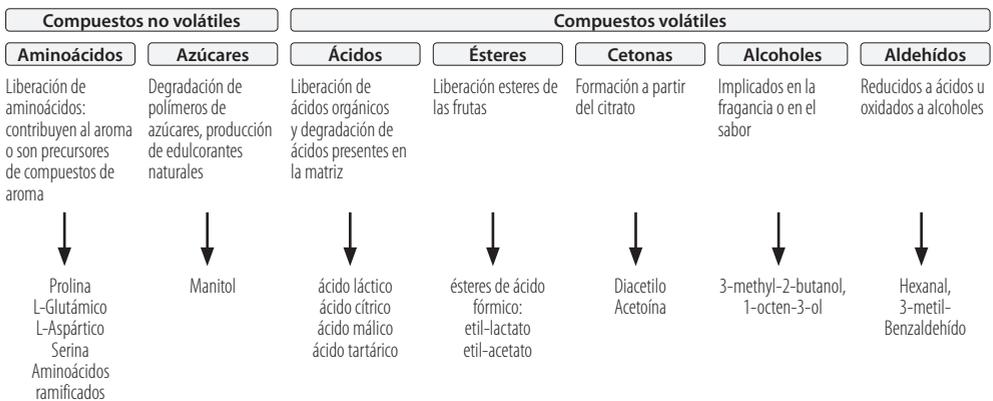
Algunas BAL pueden reducir el ácido cafeico a dihidrocafeico y el ácido ferúlico a dihidroferúlico, compuestos que tienen especial interés en la salud ya que inhiben la activación plaquetaria de una manera mucho más eficiente [51] y poseen actividad antioxidante sobre células endoteliales [52]. Los ácidos fenólicos pueden ser

decarboxilados produciendo vinil fenoles y posteriormente éstos pueden ser reducidos a etil fenoles, compuestos volátiles que inciden en el aroma [49] (ver Figura 1). El metabolismo es cepa-depediente; así, se ha informado que el *p*-cumárico fue totalmente metabolizado por *Lb. plantarum* 285 y POM1 mientras que la cepa *Lb. plantarum* C1 pudo solo convertirlo parcialmente durante la fermentación y totalmente durante el almacenamiento [48].

V. FORMACIÓN DE COMPUESTOS DE AROMA EN JUGOS DE FRUTAS FERMENTADAS

El efecto de la fermentación de jugos de frutas por BAL puede generar modificaciones en el perfil de aroma natural de los jugos: la cantidad de algunos compuestos puede incrementarse, otros pueden disminuir y otros pueden mantenerse sin cambios luego de la fermentación. En general, las fermentaciones se llevan a cabo usando diferentes cepas de lactobacilos (generalmente *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. rhamnosus*, etc.). De acuerdo a su composición química, los compuestos de aroma de los jugos pueden clasificarse en volátiles, no volátiles y ácidos (ver Figura 2). Entre los compuestos volátiles se pueden mencionar a los alcoholes, ácidos, cetonas, hidrocarburos, aldehídos y ésteres. Los compuestos no volátiles pueden incluir aminoácidos como L-serina, prolina, L-ácido glutámico y L-aspártico. Entre los ácidos se pueden encontrar los ácidos cítrico, málico y láctico.

Figura 2. Compuestos de aroma producidos por BAL en matrices frutales.



En jugo de tomate fermentado por cepas de *Lb. plantarum* y *Lb. casei* se encontró que los alcoholes fueron los compuestos más abundantes (49-52%) entre los compuestos volátiles, notándose un aumento en el contenido de los mismos luego de la fermentación para ambas cepas. Además, la concentración de ácidos grasos en el jugo fermentado por *Lb. casei* aumentó por formación de acetato de amonio (10%). Se observaron también cambios en la concentración de ácido acético (de 3 a 27%)

cuando se usó la cepa de *Lb. plantarum*. Las cetonas se incrementaron de 0,5 a 15% (con la cepa de *Lb. casei*) y a 12% (*Lb. plantarum*) luego de la fermentación, siendo uno de los principales compuestos detectados 6-metil-5-heptano-2-ona. Por otro lado, los hidrocarburos volátiles disminuyeron significativamente desde 15 a 4% (*Lb. casei*) y 2% (*Lb. plantarum*) en el jugo fermentado. Todos los hexadecanos, con excepción de algunos compuestos, se incrementaron en ambos jugos. Respecto a los aldehídos, la concentración de este grupo disminuyó casi en su totalidad por acción de ambos lactobacilos, aunque se detectó la formación del compuesto undecanal. Dentro de los compuestos de aroma, los ésteres son los que confieren aromas frutales y florales a los jugos fermentados que se forman durante la fermentación. Se observó una escasa disminución en la cantidad total de ésteres durante la fermentación mediante la desaparición de acetato de etilo; sin embargo, se formaron nuevos compuestos cuando se usó la cepa de *Lb. casei*. Los cambios encontrados se deberían a la actividad y variedad de enzimas de *Lb. plantarum* y *Lb. casei*. Respecto a los alcoholes, se detectó la formación de un nuevo grupo de sustancias de compuestos aromáticos diferentes. Además de los ésteres y alcoholes, la aparición de otros compuestos posiblemente contribuyó a las propiedades antioxidantes y antimicrobianas del jugo de tomate [53].

Otros autores evaluaron los compuestos de aroma en mezcla de jugos de frutas y vegetales (manzana, zanahoria, tomate, pepino y baya de espinillo) fermentados por diferentes especies de lactobacilos y pudieron identificar un total de 14 compuestos como marcadores determinantes del aroma y el sabor de las muestras mediante espectrometría de masa acoplado a cromatografía gaseosa [54]. Mediante análisis estadísticos (ACP y PLS-DA) se distinguieron tres tipos de compuestos que significativamente afectaban el perfil de los compuestos volátiles y no volátiles de las frutas y vegetales fermentados. Así, por ejemplo, en un grupo se incluyó a cepas de *Lb. casei* y *Lb. rhamnosus* como principales contribuyentes del sabor umami (o sabroso, uno de los cinco sabores básicos). Otro grupo que incluyó cepas de *Lb. plantarum* y *Lb. acidophilus* observó que contribuyeron principalmente al sabor ácido, mientras que se encontró que *Lb. fermentum* afectó fuertemente la producción de compuestos volátiles. Es importante destacar que distintas cepas de *Lactobacillus* pueden jugar un papel diferente en la modificación de los compuestos relacionados con las características de aroma y sabor.

En otro estudio, se analizó el efecto de la fermentación láctica en jugo de sauco [55] usando 15 cepas de *Lb. plantarum*, *Lb. rhamnosus* y *Lb. casei* aisladas de diferentes tipos de matrices. El perfil de compuestos volátiles se evaluó mediante cromatografía gaseosa (HS-SPME/GC-MS) luego de una fermentación de 48 horas y de una vida de estante de 12 días a 4 °C. El perfil de compuestos aromáticos de todos los jugos fermentados se caracterizó por la presencia de 82 compuestos volátiles pertenecientes a diferentes clases: alcoholes, terpenos y norisoprenoides, ácidos orgánicos, cetonas y ésteres. El jugo de sauco fermentado con cepas de *Lb. plantarum* mostró un aumento de los compuestos volátiles totales luego de 48 horas mientras que los jugos

fermentados con *Lb. rhamnosus* y *Lb. casei* exhibieron un incremento aún mayor después de la vida de estante. La concentración más alta de compuestos volátiles se encontró con el jugo fermentado con *Lb. plantarum* aislado de un producto lácteo. Las cetonas, principalmente acetoina y diacetilo, se incrementaron en todos los jugos fermentados después de la fermentación y de la vida de estante. Los ácidos orgánicos más abundantes encontrados fueron el ácido acético e isovalérico. Los alcoholes hexanol, 3-hexen-1-ol y 2-hexen-1-ol aumentaron durante la fermentación con bacterias de origen lácteo. Los ésteres más representativos, etil acetato, metil isovalerato, isoamil isovalerato y metil salicilato se correlacionaron con las notas frutales. Entre los terpenos y los norisoprenoides, la β -damascenona fue el compuesto principal con nota típica del sauco. Finalmente, mediante la aplicación de análisis estadísticos multivariados fue posible relacionar el perfil volátil característico de las muestras con las diferentes especies y cepas de lactobacilos usados en este trabajo.

En otro trabajo se investigó el efecto de la fermentación sobre el perfil de compuestos volátiles de jugos fermentados de melón y de castañas de cajú mediante micro-extracción en fase sólida en un sistema de Cromatógrafo de Gases acoplado a Espectrómetro de Masas (HS-SPME/GC-MS, por sus siglas en inglés). La fermentación con *L. casei* provocó una reducción de etil butanoato, 2-etil metilbutirato y etil hexanoato en el jugo de melón mientras que etil acetato, etil 2-metil butanoato, etil crotonato, etil isovalerato, benzaldehído, y etil hexanoato en jugo de castañas. Las medidas de estabilidad de estos compuestos y la formación de del compuesto 3-metil-2-butenilo en el jugo de melón podrían usarse como marcadores de compuestos volátiles durante la fermentación [56].

VI. BACTERIAS PROBIÓTICAS EN JUGOS DE FRUTA

El bienestar, la salud y el riesgo de contraer diferentes enfermedades están relacionados con la alimentación, por esta razón el desarrollo de alimentos capaces de mejorar la calidad de vida es la nueva tendencia en la ciencia de la nutrición, poniéndose así énfasis en prevención y no en medicación [57]. Ya 400 años a.C. Hipócrates había manifestado “Que tu medicina sea tu alimento, y el alimento sea tu medicina”.

Las bebidas funcionales son una categoría relevante dentro del mercado de los alimentos [41] y el consumo de jugos de fruta ha mostrado un incremento a nivel mundial. El desarrollo de bebidas funcionales a base de frutas fermentadas o como vehículo de bacterias probióticas son una alternativa atractiva no sólo por las cualidades inherentes a las frutas (vitaminas, minerales, compuestos antioxidantes, etc.) sino que también pueden alcanzar a consumidores que eviten alimentos lácteos. A partir de la fermentación espontánea de la fruta pueden aislarse BAL autóctonas que pueden ser luego utilizadas para la elaboración de otros alimentos con el fin de aumentar la calidad y/o funcionalidad de nuevos productos con valor agregado.

Los beneficios en la salud asociados al consumo de probióticos son principalmente la reducción de los niveles de colesterol [15, 58, 59], modulación del sistema inmune, disminución en constipación, aumento de la absorción de minerales, efectos anticancerígenos y antihipertensivos, entre otros. Sin embargo, la característica más sobresaliente de los probióticos es su capacidad de inhibir el desarrollo de organismos patógenos y modular la microbiota intestinal por medio de la exclusión competitiva dada por su capacidad de adhesión y producción de bacteriocinas, peróxido de hidrogeno y ácidos orgánicos, los cuales reducen el pH del intestino y retardan el crecimiento de patógenos sensibles al ácido [60].

Si bien la mayoría de los probióticos comerciales fueron aislados del tracto gastrointestinal humano, las frutas podrían constituir una fuente de cepas capaces de resistir ambientes similares a los del tracto gastrointestinal ya que el microambiente de las frutas es en general extremadamente ácido, posee elevadas concentraciones de nutrientes poco digeribles (fibras, oligosacáridos) y factores antinutricionales (taninos, fenoles) [5]. Por otro lado, las bacterias en la fruta pueden tener la capacidad de adherirse y ejercer actividad inhibitoria sobre otras bacterias deteriorantes y patógenas. El uso de cepas aisladas de fruta para la elaboración de jugos de fruta fermentados tendría una ventaja adaptativa sobre probióticos aislados de otras fuentes ya que provendrían del mismo nicho que las bebidas de fruta fermentadas. Recientemente, se demostró que los jugos de fruta podrían ser un sustrato apto para la propagación y/o como vehículo de probióticos. Los microorganismos deben ser capaces de crecer y/o sobrevivir a las condiciones de la fruta para poder ejercer su efecto benéfico en el huésped. Durante este proceso, los microorganismos además de aumentar su biomasa consumen azúcares y pueden producir metabolitos tales como bacteriocinas, peróxido de hidrógeno y ácidos que pueden inhibir la proliferación de microorganismos deteriorantes y/o patógenos. Como se mencionó antes, las bacterias inoculadas pueden producir compuestos de aroma, aumentar la biodisponibilidad de compuestos fenólicos y degradar polímeros de azúcares no digeribles y proteínas aumentando su valor nutricional. Sin embargo, para que se produzca una fermentación eficiente, los microorganismos deben además consumir los azúcares presentes en la fruta (sacarosa, fructosa, glucosa) y tolerar las condiciones ambientales dadas por una mínima concentración de aminoácidos y proteínas, presencia de compuestos fenólicos, flavonoides y pH ácido.

Si bien se ha logrado que algunos probióticos crezcan y se mantengan viables durante la vida de estante con valores de contaje celular mayores a 7 log UFC/mL en jugos de fruta fermentados, como por ejemplo *Lb. plantarum* ATCC 14917 en jugo de granada, en otros jugos fue necesario aplicar diferentes estrategias para lograr su crecimiento. Una de ellas fue aumentar el pH del jugo a valores cercanos a 6,0-7,0. Bujna y colaboradores [61] lograron desarrollar un jugo de damasco fermentado por un cultivo mixto conteniendo las cepas *Bifidobacterium lactis* Bb-12, *B. longum* Bb-46, *Lb. casei* 01 y *Lb. acidophilus* La-5, mientras que Nguyen y colaboradores [57] formularon un jugo fermentado de ananá con la cepa probiótica *Lb.*

plantarum 299V. Lu y colaboradores [62] desarrollaron una bebida fermentada a base de fruta estrella (*Averrhoa carambola*) logrando un adecuado crecimiento y producción de ácido láctico por una cepa de *Lb. rhamnosus*. Por otro lado, Nithya y Vasudevan [63] observaron un crecimiento adecuado de cepas de *Lb. plantarum* y *Lb. acidophilus* en jugo de papaya cuando lo sometieron a clarificación utilizando pectinasa. Otra de las estrategias para mejorar el crecimiento es el agregado de prebióticos como inulinas de cadena corta y larga a los jugos de frutas, ya que pueden promover el desarrollo de microorganismos probióticos y/o mantener su sobrevivencia durante el almacenamiento [64]. Otra alternativa es utilizar una mezcla de jugos de fruta con una matriz láctea. En este sentido, Martínez y colaboradores [65] formularon una bebida fermentada a base de jugo de naranja, mango y leche. En este caso las BAL utilizadas pudieron fermentar fructosa, pero no lactosa, por lo que la leche se agregó solo para incrementar el pH inicial del jugo y suplementarlo con proteínas. Las cepas utilizadas fueron capaces de crecer y sobrevivir durante el almacenamiento y la digestión gastro-intestinal *in vitro*. Ozcan y colaboradores [66] formularon una bebida en la que se mezcló la leche fermentada por una cepa de *Lb. rhamnosus* en cantidades iguales con jugo de manzana y arándanos. Los autores observaron que la cepa era capaz de sobrevivir las condiciones de almacenamiento y presentaba elevada aceptabilidad. La inmovilización celular es otro proceso tecnológico que puede tener un efecto favorable sobre la fermentación. Recientemente, Mantzourani y colaboradores [41] demostraron que células inmovilizadas de *Lb. plantarum* ATCC 14917 producían mayores concentraciones de compuestos fenólicos en jugo de cereza cornalina (*Cornus* subg. *Cornus*) que las células libres. La sobrevivencia de los probióticos durante la vida de estante es también un parámetro importante a tener en cuenta. Una de las estrategias para reducir la muerte celular durante la conservación es la microencapsulación de los probióticos utilizando diferentes polímeros como alginatos, gelatinas, etc., que protegen al microorganismo durante el almacenamiento del alimento y el pasaje por el tracto gastrointestinal. Gandomi y colaboradores [67] comprobaron que la micro-encapsulación de *Lb. rhamnosus* GG usando quitosano e inulina tenía un efecto positivo en su sobrevivencia inoculado en jugo de manzana durante el almacenamiento a temperaturas de refrigeración. Otra de las metodologías aplicadas es la pre-adaptación del microorganismo a las condiciones de estrés del jugo. Perricone y colaboradores [68] observaron que la viabilidad de *Lb. reuteri* DSM 20016 disminuía durante la conservación debido al efecto combinado del pH y los fenoles presentes en una mezcla de jugos de ananá, naranja, manzana verde y frutos rojos y observaron que este efecto era menor si cultivaban la cepa en distintas concentraciones de jugo de frutos rojos (hasta 50 %) con ácido valínico y pH 5 como agente de estrés. Por otro lado, Saarela y colaboradores [69] pudieron incrementar la sobrevivencia de una cepa de *B. breve* en jugo de naranja, uva y maracuyá generando una variante tolerante a ácido por mutagénesis con UV y crecimiento a valores de pH sub-letales.

Durante el almacenamiento, los niveles de oxígeno deben mantenerse bajos para

evitar el daño oxidativo a los microorganismos probióticos, los cuales tienen sensibilidades variables dependiendo de las cepas. El daño oxidativo está dado por la generación de especies reactivas de oxígeno, como por ejemplo el peróxido de hidrógeno y el anión superóxido. La incorporación de antioxidantes en los jugos podría disminuir el efecto nocivo del oxígeno. Así las cepas probióticas HOWARU *Lb. rhamnosus* HN001, HOWARU *B. lactis* HN001 y *Lb. paracasei* LPC 37 fueron incorporados en un jugo modelo al que se le agregó vitaminas B₂, B₃, B₆, vitaminas C, E y antioxidantes como semillas de uva y extracto de té verde, siendo el jugo con semillas de uva, té verde y vitamina C el que mostró mayor efecto en la viabilidad de los probióticos [70].

La producción de alimentos funcionales y/o probióticos a base de frutas se está incrementando debido al aumento y popularidad del veganismo o por la búsqueda de opciones no lácteas debido a factores como intolerancia a la lactosa o alergia a proteínas de la leche. A la fecha, las investigaciones sobre el uso de frutas para la elaboración de alimentos funcionales se han centrado en la aplicación de nuevas tecnologías que eviten afectar negativamente las propiedades sensoriales y nutricionales de las frutas. Los estudios se han realizado con jugos de tomate, mango, naranja-manzana, uva-melón, granada, duraznos, etc., usando mayormente cepas de *Lactobacillus* spp. (*Lb. acidophilus*, *Lb. helveticus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei*, *Lb. johnsonii*, *Lb. plantarum*, *Lb. gasserii*, *Lb. reuteri*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. crispatus*, *Lb. fermentum*, *Lb. rhamnosus*); *Bifidobacterium* spp. (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. lactis*, *B. laterosporus*) y otras especies como *Streptococcus thermophilus*, *Weissella* spp., *Propionibacterium* spp., *Pediococcus* spp., *Enterococcus faecium*, *Leuconostoc* spp y *Lactococcus lactis*. La mayoría de los microorganismos probióticos utilizados son BAL y microorganismos relacionados; sin embargo, se han utilizado también levaduras como por ejemplo *Saccharomyces boulardii* [59].

VII. ALIMENTOS FERMENTADOS ARTESANALES Y COMERCIALES A BASE DE FRUTAS

Existen diversos alimentos a base de frutas fermentadas típicos de distintos lugares del mundo; entre ellos podría nombrarse al *Tempoyak* que es un condimento fermentado típico de Malasia a base de pulpa de la fruta durian (*Durio zibethinus*), salada y fermentada espontáneamente a temperatura ambiente en un recipiente herméticamente cerrado durante 7 días. El sabor ácido de este alimento fue atribuido al crecimiento de BAL principalmente de *Lb. brevis*, *Lb. mali*, *Lb. fermentum*, *Lb. durianis* y *Leuconostoc mesenteroides*. El *Yan-taozih* es un pickle a base de durazno, alimento popular en China y Taiwán que se prepara salando los duraznos con 5-10% de sal y agitando hasta que exude el agua. Luego se lavan y se les agrega azúcar y ciruelas en escabeche, esta mezcla se fermenta a temperaturas entre 6 y 10°C durante un día. De este alimento se aislaron cepas de *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactococcus lactis*, *Weissella cibaria*, *W. paramesenteroides*, *W. minor*, *Enterococcus faecalis* y *Lb. brevis*. Las

conservas de frutas como el mango (*Mangifera indica* L.) y algunos vegetales (pepinos) son utilizadas en la cocina de distintas partes del mundo. Una de las frutas fermentadas más consumidas mundialmente son las cerezas (*Prunus avium* L.) producidas en Italia, Estados Unidos, Irán y Turquía [15].

Si bien los alimentos a base de frutas fermentadas existen en la tradición de algunas culturas, el primer producto vegetal probiótico comercial denominado Proviva® desarrollado por la empresa sueca *Skane Dairy* surgió recién en el año 1994. El componente activo de este producto es avena fermentada con la cepa probiótica *Lb. plantarum* 299v y el producto final es un jugo de fruta conteniendo 5% de avena y 1010 UFC/ml de la cepa probiótica [71]. Todavía, son necesarios estudios más profundos para garantizar la inocuidad, el efecto probiótico y la calidad nutricional de este tipo de bebidas [72]. Dentro de las bebidas probióticas o funcionales a base de frutas comercializadas mundialmente se pueden mencionar: GoodBelly® en Estados Unidos y ProViva® en Suecia que usan *Lb. plantarum* 299v como cepa probiótica, mientras que Biola® en Noruega y Finlandia y Gefilus® en Finlandia usan la cepa probiótica *Lb. rhamnosus* GG. Por otro lado, Healthy Life® de Australia usa la cepa *Lb. plantarum* HEAL 9 y *Lb. paracasei* 8700:2. Berggren y colaboradores [73] demostraron que este producto era capaz de fortalecer el sistema inmune contra infecciones virales. ProViva® incluye en su composición avena mientras que GoodBelly® tiene algunas formulaciones a base únicamente de frutas y azúcar de caña aptas para celíacos. Xu y colaboradores [74] demostraron que diferentes formulaciones de ProViva® eran capaces de atenuar la respuesta temprana a insulina lo que estaba relacionado con el contenido de polifenoles presentes en las frutas, mientras que otros autores [75] mostraron que esta bebida a base de rosa mosqueta (escaramujo) reducía los síntomas del síndrome de intestino irritable. Wang y colaboradores [76] mostraron que una bebida fermentada comercial a base de fruta de la montaña Changbai podía modular la microbiota intestinal de ratones, incrementando la proporción de bacterias de la familia *Prevotellaceae*, *Bacteroidales* S24-7 y *Bacteroidaceae* del género *Bacteroides*, consideradas benéficas para la salud. Otros trabajos utilizando jugos de frutas mostraron que la fermentación incrementaba la actividad antioxidante de la bebida fermentada. En este sentido, Yan y colaboradores [42] observaron que la fermentación de un jugo a base de orujo de arándanos con *Lb. rhamnosus* GG, *Lb. plantarum*-1, y *Lb. plantarum*-2 incrementaba la actividad antioxidante debido al aumento de la concentración de fenoles y flavonoides. Este jugo tuvo también efecto positivo en la velocidad de depuración del colesterol. Mantzourani y colaboradores [41] observaron que cuando se fermentaba jugo de granada con la bacteria probiótica *Lb. plantarum* ATCC 14917 aumentaba la actividad antioxidante debido al aumento de la concentración de compuestos fenólicos, especialmente de ácido gálico. Estos resultados indicarían que los jugos fermentados podrían tener efectos específicos sobre la salud más allá de los atribuidos a las cepas probióticas utilizadas para su elaboración mediante la liberación y/o transformación de compuestos específicos presentes en las frutas.

VII.A. VINO: LA BEBIDA ALCOHÓLICA FERMENTADA A BASE DE JUGO DE UVA MUNDIALMENTE ACEPTADA

El vino es la bebida proveniente de la fermentación alcohólica de la uva fresca, estrujada o no, o del mosto de uva. Esta bebida es el resultado de interacciones complejas entre levaduras, bacterias, mosto y condiciones físico-químicas. Por lo tanto, la calidad del vino dependerá tanto de la composición química del mosto de uva con el cual se elabora el producto, como de los aspectos tecnológicos y microbiológicos relacionados con el proceso de vinificación [77]. La elaboración del vino es un proceso complejo que puede variar de un lugar a otro y de acuerdo al tipo de producto elaborado. Los vinos pueden clasificarse de acuerdo a su color en: blancos, tintos y rosados. Los vinos blancos son los procedentes de mostos de uva blanca o de uva tinta con pulpa y sin los hollejos. Los vinos tintos y rosados provienen de uvas tintas fermentadas en presencia de los hollejos para llevar a cabo la maceración, siendo este paso muy breve en los vinos rosados [78].

VII.A.1. PRODUCCIÓN DE VINO EN ARGENTINA

De acuerdo a los datos estadísticos de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV), Argentina es el quinto país productor a nivel mundial con un rendimiento de 10 a 14 millones de hL en los 5 últimos años que representa el 5% de la producción global (www.oiv.int/public/medias/6782/oiv-2019-statistical-report-on-world-vitiviniculture).

En nuestro país, numerosas bodegas de diferentes regiones como las de Cuyo y el Noroeste (NOA) todavía emplean cultivos iniciadores comerciales de origen extranjero; considerando la tendencia a producir vinos diferenciados, surge la necesidad de usar microorganismos autóctonos a fin de preservar las características sensoriales propias de cada región de producción denominado *terruño* o *terroir* [79].

Argentina produce vinos de diferentes variedades (ver Figura 3), siendo la provincia de Mendoza, en la región de Cuyo, la principal productora a nivel nacional y el vino tinto Malbec su variedad emblemática. En la región NOA, la zona vitivinícola de mayor producción es Cafayate (Salta) y el variedad más destacado es el blanco Torrontés. Además, en Salta también se elaboran vinos tintos Malbec y Cabernet Sauvignon. En la Patagonia (Río Negro y Neuquén), los principales variedades que se producen son Malbec, Merlot, Cabernet Sauvignon y Pinot Noir (www.argentina.gob.ar/inv/vinos/estadisticas/regiones-vitivinicolas).

Figura 3. Producción de vino a nivel mundial y nacional.

VII.A.2. COMPOSICIÓN DEL MOSTO DE UVA Y VINO

El mosto de uva es un medio nutritivo que contiene los elementos necesarios para el desarrollo de microorganismos, tanto levaduras como bacterias. La concentración de cada componente depende del tipo de uva, región de producción, clima, procesamiento de la uva, entre otros factores. El mosto de uva contiene D-glucosa y D-fructosa como azúcares principales y en proporciones similares, y pequeñas cantidades de D-xilosa, D-arabinosa y L-ramnosa [80]. El contenido total de azúcares reductores varía entre 140-250 g/L, dependiendo del grado de maduración de las bayas de uva, y determina el grado alcohólico del vino. Otro componente importante es el nitrógeno (presente como amonio y aminoácidos libres) cuyo contenido en el mosto puede variar entre 0,3-1,5 g/L, limitando el crecimiento de las levaduras y en algunos casos deteniendo o retrasando la fermentación [81]. La concentración de proteínas del mosto depende de la variedad y madurez de las uvas, así como de la forma en que se manipulan antes de la fermentación [82].

Con respecto a los ácidos orgánicos, los predominantes en el mosto son el ácido L-tartárico y el ácido L-málico. Estos ácidos, la extensión de su disociación, la acidez titulable y el pH determinan el carácter ácido del mosto, propiedad fundamental para la vinificación y de gran influencia en la calidad organoléptica del vino obtenido [78].

Los compuestos fenólicos (CF) son un grupo extenso y complejo de particular importancia en los vinos. Su concentración en vinos tintos es mucho mayor que en los blancos. Los CF presentes en la piel y semillas de la uva tinta son los mayores responsables del color, además de contribuir al sabor, la astringencia y el amargor [77]. Como se mencionó antes, se clasifican como no flavonoides (ácidos benzoicos, ácidos cinámicos y estilbenos) y flavonoides (flavonoles, antocianos y flavanoles). Los antocianos y los taninos (flavonoles polimerizados o procianidinas) son los compuestos más abundantes y relevantes en relación al color, calidad y estabilidad de los vinos tintos [83]. Sus propiedades antioxidantes también se han asociado al consumo moderado de vino tinto y se le han atribuido diversos efectos benéficos para la salud, siendo el resveratrol el CF más estudiado y popularmente conocido del vino [84, 85].

VII.A.3. TIPOS DE FERMENTACIONES QUE OCURREN DURANTE LA VINIFICACIÓN

Durante el proceso de vinificación pueden tener lugar dos tipos de fermentaciones, dependiendo del tipo de vino y las características deseadas en el producto final. La fermentación primaria o alcohólica (FA) es conducida por levaduras, principalmente *Saccharomyces cerevisiae*, que son los microorganismos responsables de transformar los azúcares del mosto en etanol [86]. En algunos tipos de vinos como los tintos y espumantes, tiene lugar una fermentación secundaria o maloláctica (FML) realizada por BAL [87]. Ambas fermentaciones pueden ser llevadas a cabo de forma espontánea, a partir de poblaciones autóctonas de microorganismos presentes en la uva y/o en la bodega. En la actualidad, se prefieren las fermentaciones controladas, en las cuales se inoculan cultivos iniciadores que permiten reducir la producción de subproductos indeseados, aumentar la velocidad de la fermentación, disminuir la posibilidad de contaminación con otros microorganismos y la interrupción de la fermentación [77]. Sin embargo, en las fermentaciones inoculadas se obtienen vinos que carecen de identidad regional [79]. La selección de levaduras y bacterias autóctonas asegura el mantenimiento de las propiedades sensoriales típicas de los vinos producidos en una determinada región preservando así la biodiversidad microbiana [88]. En nuestro país, se realizaron diferentes estudios para caracterizar y seleccionar microorganismos autóctonos de diferentes regiones vitivinícolas [89-96].

VII.A.4. IMPORTANCIA DE LAS BAL EN LA PRODUCCIÓN DEL VINO

En el vino, las BAL conducen la FML que consiste en la decarboxilación enzimática del ácido L-málico en ácido L-láctico y dióxido de carbono por acción de la enzima maloláctica. *Oenococcus oeni* es la especie tradicionalmente usada como cultivo iniciador maloláctico por ser la más adaptada y resistente a las condiciones de estrés como bajos valores de pH, elevado contenido de etanol y presencia de dióxido de azufre [97, 98]. Sin embargo, en la última década se ha propuesto a *Lb. plantarum* como un cultivo iniciador alternativo por presentar elevada actividad enzimática y tolerar las condiciones desfavorables del vino [99, 100].

Desde el punto de vista enológico, la FML es importante por disminuir la acidez, incrementar la estabilidad microbiológica para contrarrestar la presencia de microorganismos indeseables capaces de consumir carbohidratos presentes y mejorar el flavor del vino por acción de enzimas producidas por las BAL [101, 102]. Sin embargo, este proceso es todavía difícil de controlar debido a los diferentes factores que pueden afectar el crecimiento y actividad de la bacteria maloláctica. Por esto, y con el fin seleccionar cepas más adaptadas que puedan conducir exitosamente la FML, se están llevando a cabo diversos estudios para caracterizar la tolerancia al estrés de las BAL vónicas [93, 103-105].

Si bien el principal beneficio de la FML para el proceso de vinificación es la disminución de la acidez de los vinos, esta fermentación también permite mejorar las

características aromáticas del producto a través del metabolismo de ácidos orgánicos, carbohidratos, polisacáridos, aminoácidos y la producción de enzimas como glicosidasas, esterasas y proteasas, que generan compuestos volátiles que modifican el flavor [106]. La FML puede incrementar los aromas frutales y mantecosos mediante la formación e hidrólisis de ésteres y producción de diacetilo por el metabolismo de citrato. Por otra parte, la reducción de los aromas vegetales o herbáceos podría deberse al catabolismo de los aldehídos convirtiéndolos en etanol y acetato [107]. *O. oeni* tiene numerosas glicosidasas y sus actividades contribuyen a la liberación de numerosos compuestos aromáticos incluyendo monoterpenos, norisoprenoides y compuestos alifáticos que contribuyen a los atributos frutales y florales de los vinos [108, 109]. Estudios más recientes también demostraron la influencia de *Lb. plantarum* en las características organolépticas de los vinos [106, 110, 111].

VII.A.5. ESTRATEGIAS DE INOCULACIÓN: FERMENTACIÓN SECUENCIAL VS. SIMULTÁNEA

Naturalmente, la FML ocurre una vez que la FA ha terminado. Esto se debe a que las levaduras pierden viabilidad al final de la fermentación, se lisan y liberan nutrientes intracelulares que permiten a las BAL, resistentes al etanol, crecer en el vino [112]. Cuando se emplean cultivos iniciadores de levaduras y bacterias, estos generalmente se inoculan en forma secuencial para reproducir las fermentaciones espontáneas. Sin embargo, los cultivos malolácticos pueden ser inoculados antes de la FA, co-inoculados con las levaduras o secuencialmente después de la FA [99, 113, 114]. En el caso del clásico par *S. cerevisiae*-*O. oeni* se prefiere la inoculación secuencial para evitar una elevada concentración de ácido acético en el producto final. Este problema no ocurre al usar *Lb. plantarum* para inducir la FML debido a su metabolismo homofermentativo, permitiendo así su inoculación simultánea. En los últimos años, ha crecido el interés en implementar la inoculación de los cultivos de BAL en forma simultánea o apenas iniciada la FA debido a ciertas ventajas como menor tiempo necesario para completar el proceso fermentativo, mejor perfil aromático y mayor control de los microorganismos deteriorantes siendo el principal requisito realizar una adecuada selección de los cultivos iniciadores [115, 116].

VIII. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

El consumo de frutas está asociado con el beneficio para la salud del consumidor ya que los componentes que se encuentran en estos alimentos claramente avalan sus propiedades funcionales. Sin embargo, el rápido deterioro post-cosecha restringe el consumo de algunas frutas como productos frescos en lugares cercanos a su cultivo y provoca grandes pérdidas económicas. La fermentación láctica de estos alimentos surge entonces como una alternativa efectiva, eco-amigable y sustentable para producir alimentos o bebidas con mayor vida de estante. De las bebidas fermentadas

a base de frutas existentes en el mercado internacional, el vino ocupa definitivamente el primer lugar en cuanto a su consumo. Sin embargo, es una bebida producida por fermentación alcohólica, lo cual limita o restringe su consumo. En los últimos años, la población ha dirigido sus hábitos alimenticios hacia alimentos saludables que aporten beneficios adicionales a los nutricionales básicos (alimentos funcionales). Las ventajas de la ingesta diaria de frutas han sido ya demostradas en diversos estudios científicos y epidemiológicos, así como las ventajas de consumir alimentos fermentados derivados de las mismas. En cuanto al desarrollo y formulación de bebidas frutales fermentadas no-alcohólicas en nuestro país, existe todavía una gran área de vacancia científico-tecnológica que los microbiólogos debemos atender. La posibilidad de producir un sinergismo entre el metabolismo de BAL y los compuestos bioactivos de las frutas, dirigido a la producción de bebidas con metabolitos bioactivos de mayor biodisponibilidad y/o funcionalidad, han sido detalladas en este capítulo. Este proceso biotecnológico representa un desafío para el desarrollo de nuevos alimentos fermentados, con el objetivo de ofrecer nuevos alimentos funcionales que incluyan a consumidores con hábitos veganos o vegetarianos o aquellas personas que prefieran alternativas a los alimentos lácteos.

IX. DECLARACIÓN DE POSIBLES CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

X. BIBLIOGRAFÍA

- [1] MSN. (2016). Guías Alimentarias para la Población Argentina. Buenos Aires.
- [2] MSN. (2013). Encuesta Nacional de Factores de Riesgo 2013 para Enfermedades no Transmisibles. Argentina.
- [3] Bates, R. P., Morris, J. R. y Crandall, P. G. (2001). Principles and practices of small-and medium-scale fruit juice processing; Rome: Food and Agriculture Organization (FAO).
- [4] Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Campaniello, D., D'Amato, D., Gallo, M., Speranza, B. y Sinigaglia, M. (2011). Shelf life prolongation of fruit juices through essential oils and homogenization: a review. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, 3, 1157-1166.
- [5] Di Cagno, R., Coda, R., De Angelis, M. y Gobbetti, M. (2013). Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiology*, 33(1), 1-10.
- [6] Cutler, G. J., Nettleton, J. A., Ross, J. A., Harnack, L. J., Jacobs Jr, D. R., Scrafford, C. G.,

- Barraj, L. M., Mink, P. J. y Robien, K. (2008). Dietary flavonoid intake and risk of cancer in postmenopausal women: the Iowa Women's Health Study. *International Journal of Cancer*, 123(3), 664-671.
- [7] Dai, Q., Borenstein, A. R., Wu, Y., Jackson, J. C. y Larson, E. B. (2006). Fruit and vegetable juices and Alzheimer's disease: the Kame Project. *The American Journal of Medicine*, 119(9), 751-759.
- [8] Aune, D., Giovannucci, E., Boffetta, P., Fadnes, L. T., Keum, N., Norat, T., Greenwood, D. C., Riboli, E., Vatten, L. J. y Tonstad, S. (2017). Fruit and vegetable intake and the risk of cardiovascular disease, total cancer and all-cause mortality—a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *International Journal of Epidemiology*, 46(3), 1029-1056.
- [9] Garcia, E. F., Luciano, W. A., Xavier, D. E., da Costa, W. C., de Sousa Oliveira, K., Franco, O. L., de Morais Júnior, M. A., Lucena, B. T., Picão, R. C. y Magnani, M. (2016). Identification of lactic acid bacteria in fruit pulp processing byproducts and potential probiotic properties of selected *Lactobacillus* strains. *Frontiers in Microbiology*, 7.
- [10] Ruiz Rodriguez, L. G., Mohamed, F., Bleckwedel, J., Medina, R., De Vuyst, L., Hebert, E. M. y Mozzi, F. (2019). Diversity and functional properties of lactic acid bacteria isolated from wild fruits and flowers present in Northern Argentina. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1091.
- [11] Wareing, P. y Davenport, R. (2005). Microbiology of soft drinks and fruit juices. *Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices*, 279-299.
- [12] Lawlor, K. A., Schuman, J. D., Simpson, P. G. y Taormina, P. J. (2009). Microbiological spoilage of beverages *Compendium of the microbiological spoilage of foods and beverages* (pp. 245-284): Springer.
- [13] Bevilacqua, A., Corbo, M. R. y Sinigaglia, M. (2012). Use of natural antimicrobials and high pressure homogenization to control the growth of *Saccharomyces bayanus* in apple juice. *Food Control*, 24(1-2), 109-115.
- [14] Patil, S. y Kamble, V. (2011). Antibacterial activity of some essential oils against foodborne pathogen and food spoilage bacteria. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2, 143-150.
- [15] Swain, M. R., Anandharaj, M., Ray, R. C. y Parveen Rani, R. (2014). Fermented fruits and vegetables of Asia: a potential source of probiotics. *Biotechnology Research International*, 2014.
- [16] Buckenhüskes, H. J. (1993). Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as starter cultures for various food commodities. *FEMS Microbiology Reviews*, 12(1-3), 253-271.
- [17] Bourdichon, F., Casaregola, S., Farrokh, C., Frisvad, J. C., Gerds, M. L., Hammes, W. P., Harnett, J., Huys, G., Laulund, S. y Ouwehand, A. (2012). Food fermentations: microorganisms

with technological beneficial use. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), 87-97.

[18] Ruiz Rodríguez, L., Bleckwedel, J., Eugenia Ortiz, M., Pescuma, M. y Mozzi, F. (2017). Lactic acid bacteria. En Wittmann, C. y Liao, J. C. (Eds.), *Industrial Biotechnology: Microorganisms* (Vol. 1, pp. 395-451).

[19] Di Cagno, R., Filannino, P., Vincentini, O., Lanera, A., Cavoski, I. y Gobbetti, M. (2016). Exploitation of *Leuconostoc mesenteroides* strains to improve shelf life, rheological, sensory and functional features of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L.) fruit puree. *Food Microbiology*, 59, 176-189.

[20] Filannino, P., Di Cagno, R. y Gobbetti, M. (2018). Metabolic and functional paths of lactic acid bacteria in plant foods: get out of the labyrinth. *Current Opinion in Biotechnology*, 49, 64-72.

[21] Filannino, P., Cardinali, G., Rizzello, C. G., Buchin, S., De Angelis, M., Gobbetti, M. y Di Cagno, R. (2014). Metabolic responses of *Lactobacillus plantarum* strains during fermentation and storage of vegetable and fruit juices. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(7), 2206-2215.

[22] Di Cagno, R., Filannino, P. y Gobbetti, M. (2015). Vegetable and fruit fermentation by lactic acid bacteria. En Mozzi, F., Raya, R. R. y Vignolo, G. M. (Eds.), *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications* (2 ed., pp. 216-230). Chichester: John Wiley & Sons.

[23] Endo, A. (2012). Fructophilic lactic acid bacteria inhabit fructose-rich niches in nature. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 23(1), 18563.

[24] Siezen, R. J. y Bachmann, H. (2008). Genomics of dairy fermentations. *Microbial Biotechnology*, 1(6), 435-442. doi: 10.1111/j.1751-7915.2008.00067.x

[25] Di Cagno, R., Cardinali, G., Minervini, G., Antonielli, L., Rizzello, C. G., Ricciuti, P. y Gobbetti, M. (2010). Taxonomic structure of the yeasts and lactic acid bacteria microbiota of pineapple (*Ananas comosus* L. Merr.) and use of autochthonous starters for minimally processing. *Food Microbiology*, 27(3), 381-389.

[26] Di Cagno, R., Filannino, P. y Gobbetti, M. (2017). Lactic acid fermentation drives the optimal volatile flavor-aroma profile of pomegranate juice. *International Journal of Food Microbiology*, 248, 56-62.

[27] Fessard, A., Kapoor, A., Patche, J., Assemat, S., Hoarau, M., Bourdon, E., Bahorun, T. y Remize, F. (2017). Lactic fermentation as an efficient tool to enhance the antioxidant activity of tropical fruit juices and teas. *Microorganisms*, 5(2), 23.

[28] Verón, H. E., Di Risio, H. D., Isla, M. I. y Torres, S. (2017). Isolation and selection of potential probiotic lactic acid bacteria from *Opuntia ficus-indica* fruits that grow in Northwest Argentina. *LWT-Food Science and Technology*, 84, 231-240.

- [29] Di Cagno, R., Surico, R. F., Paradiso, A., De Angelis, M., Salmon, J.-C., Buchin, S., De Gara, L. y Gobbetti, M. (2009). Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on health-promoting and sensory properties of tomato juices. *International Journal of Food Microbiology*, 128(3), 473-483.
- [30] Di Cagno, R., Surico, R. F., Minervini, G., Rizzello, C. G., Lovino, R., Servili, M., Taticchi, A., Urbani, S. y Gobbetti, M. (2011). Exploitation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) puree added of stem infusion through fermentation by selected autochthonous lactic acid bacteria. *Food Microbiology*, 28(5), 900-909.
- [31] Vitali, B., Minervini, G., Rizzello, C. G., Spisni, E., Maccaferri, S., Brigidi, P., Gobbetti, M. y Di Cagno, R. (2012). Novel probiotic candidates for humans isolated from raw fruits and vegetables. *Food Microbiology*, 31(1), 116-125.
- [32] Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C. y Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(4), 287-306.
- [33] Andriantsitohaina, R., Auger, C., Chataigneau, T., Étienne-Selloum, N., Li, H., Martínez, M. C., Schini-Kerth, V. B. y Laher, I. (2012). Molecular mechanisms of the cardiovascular protective effects of polyphenols. *British Journal of Nutrition*, 108(9), 1532-1549.
- [34] Coban, D., Milenkovic, D., Chanet, A., Khallou-Laschet, J., Sabbe, L., Palagani, A., Vanden Berghe, W., Mazur, A. y Morand, C. (2012). Dietary curcumin inhibits atherosclerosis by affecting the expression of genes involved in leukocyte adhesion and transendothelial migration. *Molecular Nutrition & Food Research*, 56(8), 1270-1281.
- [35] García-Ruiz, A., Moreno-Arribas, M. V., Martín-Álvarez, P. J. y Bartolomé, B. (2011). Comparative study of the inhibitory effects of wine polyphenols on the growth of enological lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 145(2-3), 426-431.
- [36] Sabel, A., Bredefeld, S., Schlander, M. y Claus, H. (2017). Wine phenolic compounds: Antimicrobial properties against yeasts, lactic acid and acetic acid bacteria. *Beverages*, 3(3), 29.
- [37] Stead, D. (1993). The effect of hydroxycinnamic acids on the growth of wine-spoilage lactic acid bacteria. *Journal of Applied Bacteriology*, 75(2), 135-141.
- [38] Vivas, N., Lonvaud-Funel, A. y Glories, Y. (1997). Effect of phenolic acids and anthocyanins on growth, viability and malolactic activity of a lactic acid bacterium. *Food Microbiology*, 14(3), 291-299.
- [39] Campos, F., Couto, J. y Hogg, T. (2003). Influence of phenolic acids on growth and inactivation of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus hilgardii*. *Journal of Applied Microbiology*, 94(2), 167-174.

- [40] Hur, S. J., Lee, S. Y., Kim, Y.-C., Choi, I. y Kim, G.-B. (2014). Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chemistry*, 160, 346-356.
- [41] 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), 4.
- [42] 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.
- [43] Zhang, Z.-P., Ma, J., He, Y.-Y., Lu, J. y Ren, D.-F. (2018). Antioxidant and hypoglycemic effects of *Diospyros lotus* fruit fermented with *Microbacterium flavum* and *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 125(6), 682-687.
- [44] Li, Z., Teng, J., Lyu, Y., Hu, X., Zhao, Y. y Wang, M. (2019). Enhanced antioxidant activity for apple juice fermented with *Lactobacillus plantarum* ATCC14917. *Molecules*, 24(1), 51.
- [45] Rodríguez, H., Curiel, J. A., Landete, J. M., de las Rivas, B., de Felipe, F. L., Gómez-Cordovés, C., Mancheño, J. M. y Muñoz, R. (2009). Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 132(2-3), 79-90.
- [46] Septembre-Malaterre, A., Remize, F. y Poucheret, P. (2018). Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. *Food Research International*, 104, 86-99.
- [47] Kaprasob, R., Kerdchoechuen, O., Laohakunjit, N., Thumthanaruk, B. y Shetty, K. (2018). Changes in physico-chemical, astringency, volatile compounds and antioxidant activity of fresh and concentrated cashew apple juice fermented with *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 3979-3990.
- [48] Ricci, A., Cirlini, M., Maoloni, A., Del Rio, D., Calani, L., Bernini, V., Galaverna, G., Neviani, E. y Lazzi, C. (2019). Use of dairy and plant-derived lactobacilli as starters for cherry juice fermentation. *Nutrients*, 11(2), 213.
- [49] Filannino, P., Bai, Y., Di Cagno, R., Gobbetti, M. y Gänzle, M. G. (2015). Metabolism of phenolic compounds by *Lactobacillus* spp. during fermentation of cherry juice and broccoli puree. *Food Microbiology*, 46, 272-279.
- [50] Filannino, P., Gobbetti, M., De Angelis, M. y Di Cagno, R. (2014). Hydroxycinnamic acids used as external acceptors of electrons: an energetic advantage for strictly heterofermentative lactic acid bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(24), 7574-7582.
- [51] Baeza, G., Bachmair, E.-M., Wood, S., Mateos, R., Bravo, L. y De Roos, B. (2017). The colonic

metabolites dihydrocaffeic acid and dihydroferulic acid are more effective inhibitors of in vitro platelet activation than their phenolic precursors. *Food & Function*, 8(3), 1333-1342.

[52] Huang, J., de Paulis, T. y May, J. M. (2004). Antioxidant effects of dihydrocaffeic acid in human EA. hy926 endothelial cells. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 15(12), 722-729.

[53] Liu, Y., Chen, H., Chen, W., Zhong, Q., Zhang, G. y Chen, W. (2018). Beneficial effects of tomato juice fermented by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei*: antioxidation, antimicrobial effect, and volatile profiles. *Molecules*, 23(9), 2366.

[54] Cui, S., Zhao, N., Lu, W., Zhao, F., Zheng, S., Wang, W. y Chen, W. (2019). Effect of different *Lactobacillus* species on volatile and nonvolatile flavor compounds in juices fermentation. *Food Science & Nutrition*, 7(7), 2214-2223.

[55] Ricci, A., Cirlini, M., Levante, A., Dall'Asta, C., Galaverna, G. y Lazzi, C. (2018). Volatile profile of elderberry juice: Effect of lactic acid fermentation using *L. plantarum*, *L. rhamnosus* and *L. casei* strains. *Food Research International*, 105, 412-422.

[56] de Godoy Alves Filho, E., Rodrigues, T. H. S., Fernandes, F. A. N., Pereira, A. L. F., Narain, N., de Brito, E. S. y Rodrigues, S. (2017). Chemometric evaluation of the volatile profile of probiotic melon and probiotic cashew juice. *Food Research International*, 99, 461-468.

[57] Nguyen, B. T., Bujna, E., Fekete, N., Tran, A. T., 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.

[58] Sybesma, W. y Hugenholz, J. (2004). Food fermentation by lactic acid bacteria for the prevention of cardiovascular disease *Functional Foods, Cardiovascular Disease and Diabetes* (pp. 448-474): Elsevier.

[59] Istrati, D. I., Pricop, E. M., Profir, A. G. y Vizireanu, C. (2018). Fermented Functional Beverages. En Lagouri, V. (Ed.), *Functional Foods*: IntechOpen.

[60] Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J.-M. y Bressollier, P. (2013). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT-Food Science and Technology*, 50(1), 1-16.

[61] Bujna, E., Farkas, N. A., Tran, A. M., Sao Dam, M. y Nguyen, Q. D. (2018). Lactic acid fermentation of apricot juice by mono-and mixed cultures of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Food Science and Biotechnology*, 27(2), 547-554.

[62] Lu, Y., Tan, C. W., Chen, D. y Liu, S. Q. (2018). Potential of three probiotic lactobacilli in transforming star fruit juice into functional beverages. *Food Science & Nutrition*, 6(8), 2141-2150.

[63] Nithya, P. S. y Vasudevan, A. (2016). Effect of lactic acid bacteria in development of papaya juice using response surface methodology. *International Journal of Biotechnology*

and Biochemistry, 12(1), 27-32.

[64] White, J. y Hekmat, S. (2018). Development of probiotic fruit juices using *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 fortified with short chain and long chain inulin fiber. *Fermentation*, 4(2), 1-12.

[65] Martínez, F. G., Barrientos, M. E. C., Mozzi, F. y Pescuma, M. (2019). Survival of selenium-enriched lactic acid bacteria in a fermented drink under storage and simulated gastrointestinal digestion. *Food Research International*, 123, 115-124.

[66] Ozcan, T., Yilmaz-Ersan, L., Akpınar-Bayazit, A., Delikanlı, B. y Barat, A. (2015). Survival of *Lactobacillus* spp. In fruit based fermented dairy beverages. *International Journal of Food Engineering*, 1(1), 44-49.

[67] Gandomi, H., Abbaszadeh, S., Misaghi, A., Bokaie, S. y Noori, N. (2016). Effect of chitosan-alginate encapsulation with inulin on survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG during apple juice storage and under simulated gastrointestinal conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 69, 365-371.

[68] Perricone, M., Bevilacqua, A., Altieri, C., Sinigaglia, M. y Corbo, M. R. (2015). Challenges for the production of probiotic fruit juices. *Beverages*, 1(2), 95-103.

[69] Saarela, M., Alakomi, H.-L., Mättö, J., Ahonen, A., Puhakka, A. y Tynkkynen, S. (2011). Improving the storage stability of *Bifidobacterium breve* in low pH fruit juice. *International Journal of Food Microbiology*, 149(1), 106-110.

[70] Chaudhary, A. (2019). Probiotic Fruit and Vegetable Juices: Approach Towards a Healthy Gut. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(6), 1265-1279.

[71] Prado, F. C., Parada, J. L., Pandey, A. y Soccol, C. R. (2008). Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International*, 41(2), 111-123.

[72] Marsh, A. J., Hill, C., Ross, R. P. y Cotter, P. D. (2014). Fermented beverages with health-promoting potential: past and future perspectives. *Trends in Food Science & Technology*, 38(2), 113-124.

[73] Berggren, A., Ahrén, I. L., Larsson, N. y Önning, G. (2011). Randomised, double-blind and placebo-controlled study using new probiotic lactobacilli for strengthening the body immune defence against viral infections. *European Journal of Nutrition*, 50(3), 203-210.

[74] Xu, J., Jönsson, T., Plaza, M., Håkansson, Å., Antonsson, M., Ahrén, I. L., Turner, C., Spégel, P. y Granfeldt, Y. (2018). Probiotic fruit beverages with different polyphenol profiles attenuated early insulin response. *Nutrition Journal*, 17(1), 1-10.

[75] Nobaek, S., Johansson, M.-L., Molin, G., Ahrné, S. y Jeppsson, B. (2000). Alteration of intestinal microflora is associated with reduction in abdominal bloating and pain in patients

with irritable bowel syndrome. *The American Journal of Gastroenterology*, 95(5), 1231-1238.

[76] Wang, Y., Yu, M., Shi, Y., Lu, T., Xu, W., Sun, Y., Yang, L., Gan, Z. y Xie, L. (2019). Effects of a fermented beverage of Changbai mountain fruit and vegetables on the composition of gut microbiota in mice. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(4), 468-473.

[77] Ribéreau-Gayon, P., Glories, Y., Maujean, A. y Dubourdieu, D. (2006). *Handbook of Enology, Volume 2: The Chemistry of Wine-Stabilization and Treatments (Vol. 2)*: John Wiley & Sons.

[78] Pretorius, I. S. (2000). Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yeast*, 16(8), 675-729.

[79] Knight, S., Klaere, S., Fedrizzi, B. y Goddard, M. R. (2015). Regional microbial signatures positively correlate with differential wine phenotypes: evidence for a microbial aspect to terroir. *Scientific Reports*, 5(1), 1-10.

[80] Waterhouse, A. L., Sacks, G. L. y Jeffery, D. W. (2016). *Grape Must Composition Overview Understanding wine chemistry* (pp. 172-178): John Wiley & Sons.

[81] Mauricio, J. C., Valero, E., Millán, C. y Ortega, J. M. (2001). Changes in nitrogen compounds in must and wine during fermentation and biological aging by flor yeasts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(7), 3310-3315.

[82] Paetzold, M., Dulau, L. y Dubourdieu, D. (1990). Fractionnement et caractérisation des glycoprotéines dans les moûts de raisins blancs. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 24(1), 13-28.

[83] Kontoudakis, N. (2010). Grape phenolic maturity; determination methods and consequences on wine phenolic composition. *Universitat Rovira i Virgili*. Retrieved from <https://www.tdx.cat/handle/10803/8687>

[84] Kaur, G., Padiya, R., Adela, R., Putcha, U. K., Reddy, G., Reddy, B., Kumar, K., Chakravarty, S. y Banerjee, S. K. (2016). Garlic and resveratrol attenuate diabetic complications, loss of β -cells, pancreatic and hepatic oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Frontiers in Pharmacology*, 7, 360.

[85] Kuršvietienė, L., Stanevičienė, I., Mongirdienė, A. y Bernatoniene, J. (2016). Multiplicity of effects and health benefits of resveratrol. *Medicina*, 52(3), 148-155.

[86] Ciani, M., Capece, A., Comitini, F., Canonico, L., Siesto, G. y Romano, P. (2016). Yeast interactions in inoculated wine fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 7, 555.

[87] Ruiz, P., Izquierdo, P. M., Sesena, S., García, E. y Palop, M. L. (2012). Malolactic fermentation and secondary metabolite production by *Oenococcus oeni* strains in low pH wines. *Journal of Food Science*, 77(10), M579-M585.

[88] Barata, A., Malfeito-Ferreira, M. y Loureiro, V. (2012). The microbial ecology of wine grape berries. *International Journal of Food Microbiology*, 153(3), 243-259.

[89] Lopes, C., Van Broock, M., Querol, A. y Caballero, A. (2002). *Saccharomyces cerevisiae* wine yeast populations in a cold region in Argentinean Patagonia. A study at different fermentation scales. *Journal of Applied Microbiology*, 93(4), 608-615.

[90] Sangorrín, M. P., Lopes, C. A., Giraudó, M. R. y Caballero, A. C. (2007). Diversity and killer behaviour of indigenous yeasts isolated from the fermentation vat surfaces in four Patagonian wineries. *International Journal of Food Microbiology*, 119(3), 351-357.

[91] Fernández de Ullivarri, M., Mendoza, L. M., Raya, R. R. y Farías, M. E. (2011). Killer phenotype of indigenous yeasts isolated from Argentinian wine cellars and their potential starter cultures for winemaking. *Biotechnology Letters*, 33(11), 2177-2183.

[92] Mendoza, L. M., Merín, M. G., Morata, V. I. y Farías, M. E. (2011). Characterization of wines produced by mixed culture of autochthonous yeasts and *Oenococcus oeni* from the northwest region of Argentina. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 38(11), 1777-1785.

[93] Mendoza, L. M., Saavedra, L. y Raya, R. R. (2015). Draft genome sequence of *Oenococcus oeni* strain X2L (CRL1947), isolated from red wine of Northwest Argentina. *Genome Announcements*, 3(1), e01376-01314.

[94] Mendoza, L. M., Vega-Lopez, G. A., de Ullivarri, M. F. y Raya, R. R. (2019). Population and oenological characteristics of non-*Saccharomyces* yeasts associated with grapes of Northwestern Argentina. *Archives of Microbiology*, 201(2), 235-244.

[95] Mercado, L., Sturm, M. E., Rojo, M. C., Ciklic, I., Martínez, C. y Combina, M. (2011). Biodiversity of *Saccharomyces cerevisiae* populations in Malbec vineyards from the "Zona Alta del Río Mendoza" region in Argentina. *International Journal of Food Microbiology*, 151(3), 319-326.

[96] Maturano, Y. P., Assof, M., Fabani, M. P., Nally, M. C., Jofré, V., Assaf, L. A. R., Toro, M. E., De Figueroa, L. I. C. y Vazquez, F. (2015). Enzymatic activities produced by mixed *Saccharomyces* and non-*Saccharomyces* cultures: relationship with wine volatile composition. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 108(5), 1239-1256.

[97] Henick-Kling, T. (1993). Malolactic fermentation. *Wine Microbiology and Biotechnology*, 289-326.

[98] Betteridge, A., Grbin, P. y Jiranek, V. (2015). Improving *Oenococcus oeni* to overcome challenges of wine malolactic fermentation. *Trends in Biotechnology*, 33(9), 547-553.

[99] Lucio, O., Pardo, I., Heras, J., Krieger-Weber, S. y Ferrer, S. (2017). Use of starter cultures of *Lactobacillus* to induce malolactic fermentation in wine. *Australian Journal of Grape and Wine*

Research, 23(1), 15-21.

[100] Brizuela, N., Tymczyszyn, E. E., Semorile, L. C., La Hens, D. V., Delfederico, L., Hollmann, A. y Bravo-Ferrada, B. (2019). *Lactobacillus plantarum* as a malolactic starter culture in winemaking: A new (old) player? *Electronic Journal of Biotechnology*, 38, 10-18.

[101] Lonvaud-Funel, A. (1999). Lactic acid bacteria in the quality improvement and depreciation of wine *Lactic acid bacteria: Genetics, metabolism and applications* (pp. 317-331): Springer.

[102] Bartowsky, E., Costello, P. J. y Henschke, P. A. (2002). Management of malolactic fermentation: wine flavour manipulation. *Australian and New Zealand Grapegrower and Winemaker*(461), 10-12.

[103] Maitre, M., Weidmann, S., Dubois-Brissonnet, F., David, V., Covès, J. y Guzzo, J. (2014). Adaptation of the wine bacterium *Oenococcus oeni* to ethanol stress: role of the small heat shock protein Lo18 in membrane integrity. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(10), 2973-2980.

[104] Margalef-Català, M., Araque, I., Weidmann, S., Guzzo, J., Bordons, A. y Reguant, C. (2016). Protective role of glutathione addition against wine-related stress in *Oenococcus oeni*. *Food Research International*, 90, 8-15.

[105] Olguin, N. T., La Hens, D. V. s., Delfederico, L. y Semorile, L. (2019). Relative expression of stress-related genes during acclimation at low temperature of psychrotrophic *Oenococcus oeni* strains from Patagonian wine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(1), 5.

[106] Cappello, M. S., Zapparoli, G., Logrieco, A. y Bartowsky, E. J. (2017). Linking wine lactic acid bacteria diversity with wine aroma and flavour. *International Journal of Food Microbiology*, 243, 16-27.

[107] Osborne, J., Mira de Orduna, R., Pilone, G. y Liu, S.-Q. (2000). Acetaldehyde metabolism by wine lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 191(1), 51-55.

[108] Grimaldi, A., Bartowsky, E. y Jiranek, V. (2005). A survey of glycosidase activities of commercial wine strains of *Oenococcus oeni*. *International Journal of Food Microbiology*, 105(2), 233-244.

[109] Ugliano, M. y Moio, L. (2006). The influence of malolactic fermentation and *Oenococcus oeni* strain on glycosidic aroma precursors and related volatile compounds of red wine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(14), 2468-2476.

[110] Maarman, B. C. (2014). Interaction between wine yeast and malolactic bacteria and the impact on wine aroma and flavour. *Department of Viticulture and Oenology, Institute for Wine Biotechnology. Stellenbosch University*.

- [111] Du Plessis, H., Du Toit, M., Nieuwoudt, H., Van der Rijst, M., Kidd, M. y Jolly, N. (2017). Effect of *Saccharomyces*, non-*Saccharomyces* yeasts and malolactic fermentation strategies on fermentation kinetics and flavor of Shiraz wines. *Fermentation*, 3(4), 64.
- [112] Fungelsang, K. y Edwards, C. (2007). *Wine Microbiology, Practical Applications and Procedures* (2 ed.). New York, USA: Springer Science+ Business Media, LLC.
- [113] Lerena, M. C., Rojo, M., Sari, S., Mercado, L., Krieger-Weber, S. y Combina, M. (2016). Malolactic fermentation induced by *Lactobacillus plantarum* in Malbec wines from Argentina. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 37(2), 115-123.
- [114] Brizuela, N. S., Bravo-Ferrada, B. M., Pozo-Bayón, M. Á., Semorile, L. y Tymczyszyn, E. E. (2018). Changes in the volatile profile of Pinot noir wines caused by Patagonian *Lactobacillus plantarum* and *Oenococcus oeni* strains. *Food Research International*, 106, 22-28.
- [115] Tristezza, M., di Feo, L., Tufariello, M., Grieco, F., Capozzi, V., Spano, G. y Mita, G. (2016). Simultaneous inoculation of yeasts and lactic acid bacteria: Effects on fermentation dynamics and chemical composition of Negroamaro wine. *LWT-Food Science and Technology*, 66, 406-412.
- [116] Pardo, I. y Ferrer, S. (2019). Yeast-Bacteria Coinoculation *Red Wine Technology* (pp. 99-114): Elsevier.