

## Efecto antimicrobiano de los microfiltrados obtenidos de aguamiel fermentado con *Lactiplantibacillus plantarum* y *Bacillus mojavensis*

Adelfo García-Ceja\*<sup>1,2</sup>, Beatríz Pérez Armendáriz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, 21 Sur No. 1103, Barrio Santiago, 72410 Puebla, Pue, México

<sup>2</sup>TecNM Campus Venustiano Carranza, Av. Tecnológico S/N, 73049, Col. El huasteco, Cd. Lázaro Cárdenas, Puebla, México.

\*adelfo.garcia@upaep.edu.mx

### Resumen

El aguamiel es una bebida tradicional mexicana derivada del agave pulquero, es rica en carbohidratos como la inulina, un fructano que requiere hidrólisis previa a monosacáridos, principalmente fructosa, para ser metabolizado por bacterias ácido lácticas (BAL). En este estudio, se evaluó la fermentación del aguamiel utilizando cepas nativas de *L. plantarum* y *B. mojavensis*, determinando parámetros como pH, acidez titulable y análisis espectroscópico por FT-IR antes y después de la fermentación. En cuanto a la producción de ácido láctico, se cuantificaron concentraciones de 8.65 y 1.70 g/L en las fermentaciones con *L. plantarum* y *B. mojavensis*, respectivamente, indicando una mayor eficiencia fermentativa de *L. plantarum* en la conversión de inulina a ácido láctico. Los resultados del análisis FT-IR mostraron bandas de absorción en 1648 y 1624  $\text{cm}^{-1}$  en el aguamiel fermentado, atribuibles al estiramiento C=O de los grupos carboxilo. Además, se identificaron picos entre 1800 y 700  $\text{cm}^{-1}$ , correspondientes al estiramiento del anillo aromático C=C-C (1589–1574  $\text{cm}^{-1}$ , 1493–1475  $\text{cm}^{-1}$ ) y a flexiones aromáticas fuera del plano C-H (670–900  $\text{cm}^{-1}$ ) y en el plano (950–1260  $\text{cm}^{-1}$ ). Se observaron también bandas características de carbohidratos entre 930 y 920  $\text{cm}^{-1}$ , señal distintiva de fructanos, siendo menos pronunciados en los microfiltrados fermentados con *L. plantarum*. La actividad antimicrobiana de los microfiltrados se evaluó mediante el método de Kirby-Bauer, presentando un mayor efecto inhibitorio contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, en comparación con *S. enteritidis* ATCC 13076 y *E. coli* ATCC 25922. Estos hallazgos sugieren una mayor susceptibilidad de bacterias Gram positivas a los compuestos bioactivos presentes en los microfiltrados.

**Palabras Claves:** aguamiel, microfiltrados, probióticos, fermentación, inhibición

### Abstract

Aguamiel is a traditional Mexican beverage derived from the agave plant, rich in carbohydrates such as inulin fructan that requires prior hydrolysis into monosaccharides, primarily fructose, to be metabolized by lactic acid bacteria (LAB). This study evaluated the fermentation of aguamiel using native strains of *L. plantarum* and *B. mojavensis*, assessing parameters including pH, titratable acidity, and Fourier-Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy before and after fermentation. Regarding lactic acid production, concentrations of 8.65 and 1.70 g/L were quantified in fermentations with *L. plantarum* and *B. mojavensis*, respectively, indicating a higher fermentative efficiency of *L. plantarum* in converting inulin to lactic acid. FT-IR analysis of the fermented aguamiel revealed absorption bands at 1648 and 1624  $\text{cm}^{-1}$ , attributable to the C=O stretching of carboxyl groups. Additionally, peaks between 1800 and 700  $\text{cm}^{-1}$  were identified, corresponding to the stretching of aromatic rings C=C-C (1589–1574  $\text{cm}^{-1}$ , 1493–1475  $\text{cm}^{-1}$ ) and aromatic C-H bending vibrations both out-of-plane (670–900  $\text{cm}^{-1}$ ) and in-plane (950–1260  $\text{cm}^{-1}$ ). Carbohydrate-specific bands between 930 and 920  $\text{cm}^{-1}$ , characteristic of fructans, were also observed, with less pronounced signals in the microfiltrates fermented with *L. plantarum*. The antimicrobial activity of the microfiltrates was assessed using the Kirby-Bauer method, demonstrating a greater inhibitory effect against *S. aureus* ATCC 25923 compared to *S. enteritidis* ATCC 13076 and *E. coli* ATCC 25922. These findings suggest a higher susceptibility of Gram-positive bacteria to the bioactive compounds present in the microfiltrates.

**Key Words:** aguamiel, microfiltration, probiotics, fermentation, inhibition

## Introducción

El tracto gastrointestinal (TGI) de un ser humano contiene un gran número de microorganismos, a los que se les denomina actualmente microbioma, que está integrado por bacterias, hongos, arqueas, protozoos y virus (Moreno et al., 2018). El TGI es un gran reservorio de microorganismos con células microbianas que superan en número a las células del huésped en un factor de 10 y genes microbianos que superan en número a los genes del huésped en más de 100 veces (Bull y Plummer, 2014). Los microorganismos intestinales desempeñan diversas funciones beneficiosas en el metabolismo del huésped, ayudando en la síntesis de nutrientes (vitaminas y aminoácidos no esenciales). Por otro lado, también ayudan en la biotransformación de la bilis y permiten la digestión de carbohidratos no digeribles como los polisacáridos, oligosacáridos no digeridos, azúcares y alcoholes no absorbidos (Krishnamurthy et al., 2023; Soriano et al., 2024).

Existe una gran variedad de microorganismos patógenos que pueden representar un riesgo significativo para la salud humana, tanto a nivel individual como colectivo; debido al consumo de alimentos contaminados, ya sean sólidos o líquidos. Entre las cepas más comunes responsables de enfermedades transmitidas por alimentos se encuentran *Campylobacter*, *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*, entre otras. Estas bacterias pueden provocar una variedad de síntomas, como diarrea, náuseas, vómitos, fiebre, visión doble y dolor abdominal (Flores & Herrera, 2005; Guedes et al., 2024). Para combatir infecciones bacterianas y fúngicas, el uso de antibióticos ha sido una herramienta fundamental durante décadas, dada su eficacia frente a múltiples enfermedades, incluidas algunas de carácter grave. Sin embargo, es importante destacar que los antibióticos no son efectivos contra infecciones virales. El uso inadecuado y excesivo de estos fármacos ha favorecido el desarrollo de resistencia bacteriana, lo cual representa una de las principales amenazas para la salud pública a nivel mundial (AlSheikh et al., 2020; Álvarez, 2022).

Una alternativa que desde hace años se están utilizando es el consumo de los probióticos, debido a que son microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades

adecuadas, pueden proporcionar beneficios para la salud humana, se ha demostrado que algunos probióticos pueden prevenir infecciones gastrointestinales y respiratorias, así como reducir la necesidad de antibióticos en algunas infecciones menores (García-Ceja et al., 2015; Guadarrama-Ortíz et al., 2018; Suez et al., 2019). Sin embargo uno de los factores importantes sobre los probióticos es la viabilidad, actualmente existen estudios sobre el uso de los sobrenadantes de cultivos probióticos libres de células donde se observa una respuesta positiva en bacterias patógenas, debido a que estos sobrenadantes contienen una mezcla de varios compuestos producidos durante la fermentación, mostrando un amplio espectro de bioactividad y tienen actividad sinérgica entre varios compuestos (Rossoni et al., 2018; Jung et al., 2021). Por otro lado, existen estudios donde crecen diferentes microorganismos probióticos en alimentos no convencionales, uno de ellos es el pulque (Giles-Gómez et al., 2024). El pulque es una bebida alcohólica no destilada tradicional mexicana que es consumida desde la época prehispánica, y que se elabora a partir del aguamiel. El aguamiel es la salvia extraída de los magueyes pulqueros y que es rica en carbohidratos (glucosa, fructosa, sacarosa), así como algunos aminoácidos, vitaminas, minerales, compuestos fenólicos y un alto contenido de oligosacáridos, polisacáridos (Ortiz-Basurto et al., 2008), sobretodo FOS, fructanos como la inulina (Camacho, 2014), que es considerada como prebiótico, y que los probióticos la utilizan para la fermentación (Hueza-Sánchez et al., 2023). Por tal motivo, el objetivo de este trabajo es identificar los posibles componentes que se obtienen durante la fermentación de aguamiel utilizando a *Lactiplatibacillus plantarum* y *Bacillus mojavensis* por medio de FT-IR y evaluar la sensibilidad de los microfiltrados del aguamiel en tres bacterias patógenas.

## Materiales y Métodos

### Materiales

*Lactiplatibacillus plantarum*, *Bacillus mojavensis*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se obtuvieron del cepario del Laboratorio de Biotecnología de UPAEP. El aguamiel fue extraído del municipio de Singuilucan, Hidalgo, teniendo 12.9 ° Brix y 6.7 de pH.

Sacarosa de Zulka (Sinaloa, MEX), Agua Epura (Puebla, MEX). Caldo y Agar de Man-Rogosa-Sharpe (MRS) de BD Difco (NJ, USA), Caldo y Agar Mueller-Hinton BD Bioxon (Estado de México, MEX), Agua peptonada de BD Difco (NJ, USA). Filtros de jeringa (Cobetter, China) y Jeringas de plástico de BD plastipak (MEX).

### *Acondicionamiento del aguamiel*

Para la estandarización del aguamiel se realizó en una proporción 1:1 de aguamiel y agua purificada y se ajustó a 13° brix, posteriormente se hizo un proceso de pasteurización batch por 30 min a 80 °C.

### *Determinación de acidez titulable*

Se empleó el método 942.15 de la AOAC (2005), tomando una alícuota de 20 mL y se valoró con solución de NaOH 0.1 N, como indicador se utilizó 3 gotas de una solución de fenolftaleína al 1%, observando el cambio a un rosa tenue por 5 segundos, por triplicado.

### *Determinación de pH*

Se utilizó el método 981.12 de la AOAC (2005), se tomó 10 mL de la muestra y se mide el pH con un potenciómetro previamente calibrado con tres tipos de buffers (4, 7 y 10) por triplicado.

### *Crecimiento de bacterias probióticas*

Para su activación se utilizó caldo MRS que previamente se esterilizó según las especificaciones del fabricante, a temperatura ambiente se tomaron 3 asadas de *L. plantarum* y *B. mojavensis* y se colocaron en la incubadora por 24 h a 37 °C. Posteriormente se centrifugaron a 5000 rpm por 10 min y se eliminó el sobrenadante, para después resuspender el Pellet en el aguamiel previamente acondicionado y dejando fermentar por 48 h a 37 °C.

### *Microfiltrado de los fermentados del aguamiel*

Pasado las 48 h de fermentación, el aguamiel fermentado se colocó en tubos falcon de 50 mL para ser centrifugados por 10 min a 5000 rpm. Posteriormente se tomaron con una jeringa estéril de 5 mL el sobrenadante del aguamiel fermentado y se pasaron por un filtro de jeringa (Cobetter, Lote: 12B44019, China) de tamaño de poro de 0.2 µm y el filtrado se almacenó en tubos estériles a 4 °C para su posterior uso.

### *Método Kirby-Bauer*

Preparación del inóculo, de cada cepa patógena (*E. coli* 25922, *Salmonella enteritidis* 13076 y *S. aureus* 25923) se tomaron 3 colonias bien definidas y se colocaron en tubos de caldo Mueller-Hinton previamente estéril según las condiciones del fabricante, se dejaron incubar por 24 h a 37 °C. Para ajustar la turbidez de cada inóculo, se utilizó la escala de Mc Farland 0.5 leyendo a 625 nm, equivalente a  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL.

La técnica para evaluación de la actividad antimicrobiana por discos es la de método de Kirby Bauer, propuesta por Carrillo-Tomalá & Díaz-Torres (2020). Donde a cada disco de papel estéril de 5 mm de diámetro se adicionó los microfiltrados de los fermentados de aguamiel. Se utilizaron como control discos impregnados con agua. En cajas petri con agar Mueller-Hinton se colocaron 60 µL del inóculo y con ayuda un hisopo estéril se sembraron por toda la superficie del agar, después de la siembra del microorganismo, se procedió a colocar los discos impregnados con los microfiltrados de aguamiel. Las cajas petri fueron incubadas por 24 h a 37°C. Pasado el tiempo, se midió el diámetro de los halos de inhibición de cada tratamiento, expresándose en mm.

### *FT-IR*

Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier y Reflectancia Total Atenuada se realizó con el método de Zara et al. (2017). Tomando los datos en una escala de absorbancia desde 5000 hasta 400  $\text{cm}^{-1}$  con 4  $\text{cm}^{-1}$  con una resolución de 64 scans, los análisis se realizaron por duplicado. Tomando 40 µL de cada microfiltrado, para determinar los grupos funcionales que se presentan en la fermentación del aguamiel al utilizar *L. plantarum* y *B. mojavensis*.

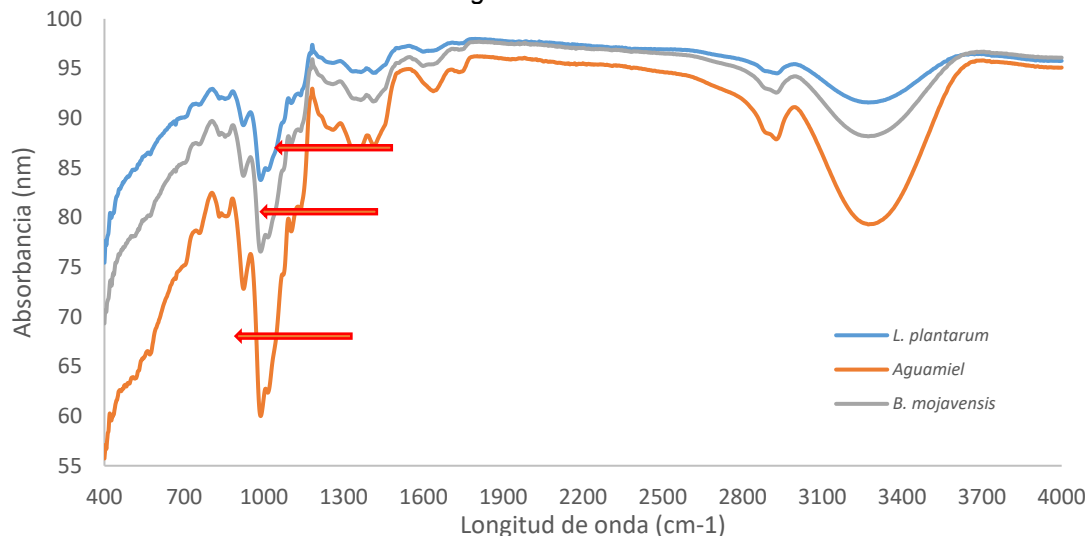
Análisis estadísticos

Para el análisis estadístico todos los experimentos se hicieron por triplicado, se empleó un diseño por bloques completos al azar, donde cada bloque se conformó por 3 microorganismos patógenos, cada factor de tratamiento correspondiente a dos bacterias, y la variable de respuesta se definió como el halo de inhibición, con respecto al control y expresada en porcentaje de inhibición. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores y una prueba de comparación

con respecto al control ( $p < 0.05$ ) para determinar la significancia estadística de las diferencias observadas en los tratamientos.

## Resultados

### Análisis del FT-IR en los microfiltrados de aguamiel



**Figura 1.** Espectros FT-IR de aguamiel y aguamiel fermentado con *L. plantarum* y *B. mojavensis* y mostrando los picos de inulina del aguamiel.

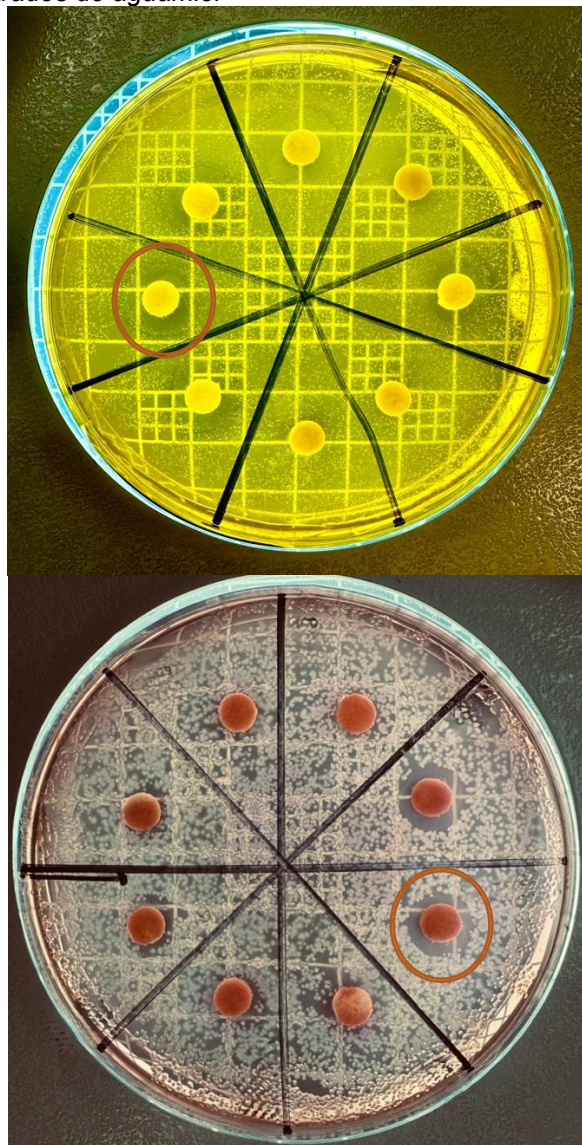
Se realizó un estudio de FT-IR en las muestras de aguamiel y aguamiel fermentado con *L. plantarum* y *B. mojavensis*, donde se muestran las transiciones vibracionales; 3200-3500  $\text{cm}^{-1}$  OH ancha debido a la formación de puentes de hidrógeno, esto concuerda a lo reportado por Loyo et al. (2020). En la región espectral de 1018 a 1105 se observa una banda mucho más marcada en aguamiel fermentado con *L. plantarum*, en esta zona, había una banda de estiramiento de los grupos C-O y C-O-C, que es característica de la inulina (Mudannayake et al., 2015; Chikkerur et al., 2019). Así mismos, en la región espectral, en el rango de 1200-900  $\text{cm}^{-1}$ , se puede observar un predominio de bandas atribuidas al estiramiento C-C, C-O y a la flexión C-O-H, C-O-C, características de varios oligos y polisacáridos (García-Pérez et al., 2023). Además, se observaron fuertes bandas de carbohidratos con una banda clara entre 930 y 920  $\text{cm}^{-1}$ , una señal característica de fructanos (Velázquez-Martínez et al., 2014; Salomé-Abarca et al., 2023). También se encontraron bandas en los espectros de absorción de los enlaces peptídicos, las 2 bandas principales en el espectro de IR de una proteína son la banda de amida I,

alrededor de 1639  $\text{cm}^{-1}$ , y la banda de amida A 3298  $\text{cm}^{-1}$ . Por otro lado, los picos entre 700 y 1800  $\text{cm}^{-1}$ , de las zonas espectrales, podrían atribuirse al estiramiento del anillo aromático C=C-C (1574-1589  $\text{cm}^{-1}$ , 1475-1493  $\text{cm}^{-1}$ ) y varias flexiones aromáticas fuera del plano C-H (670-900  $\text{cm}^{-1}$ ) y en el plano (950-1260  $\text{cm}^{-1}$ ) (Wongsa et al., 2022).

Por último, se observó una nueva banda de absorción a 1648 y 1624  $\text{cm}^{-1}$  en aguamiel fermentado y es más marcado en *L. plantarum*, se atribuyó al estiramiento C=O de los grupos carboxilos (que se refiere a ácidos grasos de cadena corta (AGCC)) (Chantakun & Benjakul, 2020; You-Lin et al., 2021).

Cerero-Calvo et al. (2022) mencionan que durante la fermentación de bacterias probióticas, los productos de la actividad metabólica como son el etanol, lactato, acetato, ácido fólico, piruvato y succinato, pueden ser metabolizados para producir AGCC, que influyen en el metabolismo, proliferación y apoptosis de las células epiteliales en pruebas *in vitro*.

## Inhibición de los microfiltrados de aguamiel



**Figura 2.** Inhibición de los microfiltrados de aguamiel fermentado con *L. plantarum* y *B. mojavensis* en bacterias patógenas.

**Tabla 1.** Halos de inhibición de los microfiltrados de aguamiel.

Bacterias patógenas	Microfiltrados	
	<i>L. plantarum</i>	<i>B. mojavensis</i>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	10.9±0.20 <sup>a</sup> mm <sup>SL</sup>	11.7±0.01 <sup>a</sup> mm <sup>SL</sup>
<i>S. enteritidis</i> ATCC 13076	8.0±0.06 <sup>a</sup> mm <sup>S</sup>	11.5±0.15 <sup>b</sup> mm <sup>SL</sup>
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	12.1±0.02 <sup>a</sup> mm <sup>SL</sup>	12.0±0.01 <sup>a</sup> mm <sup>SL</sup>

Los resultados se expresan como promedio de tres réplicas ± desviación estandar. Letras diferentes entre las muestras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en las muestras comparadas.

Los valores de sensibilidad son los siguientes: S: Sensible, SN: Sin sensibilidad, SL: Sensibilidad limitada, SM: Sensibilidad media y SV: Muy sensible. Valores: SN: 6 mm, S: 7–8 mm, SL: 9–14 mm, SM: 15–19 mm y V:20 mm.

Los resultados obtenidos respecto a los halos de inhibición generados por los microfiltrados del aguamiel fermentado con *L. plantarum* y *B. mojavensis* se presentan en la Tabla 1. Se

observó un efecto antagonico más pronunciado en contra *S. aureus* ATCC 25923, evidenciado por los halos de inhibición. En contraste, se detectó una menor

actividad inhibitoria frente a *S. enteritidis* ATCC 13076 y *E. coli* ATCC 25922, lo cual sugiere una posible variabilidad en la sensibilidad de las cepas patógenas frente a los compuestos bioactivos presentes en los microfiltrados evaluados, como era de esperarse y quedando demostrado que las Gram-positivas tienen una elevada susceptibilidad a la acción de los principios activos de los microfiltrados de aguamiel (ácido láctico), ya que, la pared celular de estas bacterias, está constituida por varias capas de peptidoglucano, que conforman una estructura gruesa y rígida en comparación con las bacterias Gram negativas, que está conformada por la membrana citoplásmica y por fuera encontramos una delgada capa de peptidoglucano (que representa entre un 5 % y un 10 % del peso de la pared celular) (Fernández-León et al., 2022), y por ende, son más resistentes a la actividad antimicrobiana de los microfiltrados de aguamiel. Romero-López et al. (2015) caracterizaron los compuestos presentes del aguamiel de la variedad *Agave atrovirens*, encontrándose 9 aminoácidos esenciales y 8 no esenciales,

saponinas, ácido ascórbico, azúcares reductores, fructooligosacáridos y compuestos fenólicos. Mencionado también que durante la fermentación del aguamiel se elevan el contenido de AGCC y cambian el pH, dichos AGCC actualmente tienen efectos antiinflamatorios, antitumorígenos y antimicrobianos (Tan et al., 2014). Además los compuestos fenólicos pueden ser fermentados por la microbiota intestinal, modulando así su bioactividad, en el colon, los compuestos fenólicos promueven acciones antiinflamatorias, antioxidantes y antiproliferativas (Dominguez-Avila et al., 2020).

Estos resultados coinciden con los estudios realizados del antagonismo al aislar una cepa de *L. plantarum* LB1\_P46 del pulque (bebida fermentada mexicana) en bacterias patógenas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli*, *Salmonella typhi* y *Shigella spp*), por el cambio de pH y formación de ácido láctico (Giles-Gómez et al., 2024).

**Tabla 2.** Parámetros fisicoquímicos del aguamiel y los fermentados *L. plantarum* y *B. mojavensis*.

Parámetros	Aguamiel	<i>L. plantarum</i>	<i>B. mojavensis</i>
pH	6.45±0.07 <sup>a</sup>	3.63±0.06 <sup>b</sup>	4.57±0.12 <sup>b</sup>
Acidez titulable	0.81±0.06 <sup>a</sup>	8.65±0.07 <sup>b</sup>	1.70±0.12 <sup>a</sup>

Los resultados se expresan como promedio de tres réplicas ± desviación estándar. Letras diferentes entre las muestras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en las muestras comparadas.  
Se expresa como g/L de ácido láctico en las muestras.

Como era de esperarse, en la Tabla 2 se muestra el cambio que tuvo el aguamiel fermentado con *L. plantarum* y *B. mojavensis* donde hay una disminución considerable del pH con respecto al aguamiel sin ser tratado, oscilando entre 3.63 y 4.57, también se observó un aumento en el contenido de ácido láctico durante la fermentación, mostrando un rendimiento de 8.65 g/L en *L. plantarum* y en *B. mojavensis* 1.70 g/L al final de la fermentación,

demostrando que *L. plantarum* es una cepa que diferentes autores reportan que es gran productora de ácido láctico; al igual que *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus pentosus* entre otras (García et al., 2010; McEwan et al., 2011). Pero por otro lado, hay pocos estudios de *B. mojavensis* sobre la producción de ácido láctico, en la mayoría reportan la obtención de biosurfactantes y péptidos (López et al., 2023).

# Artículos

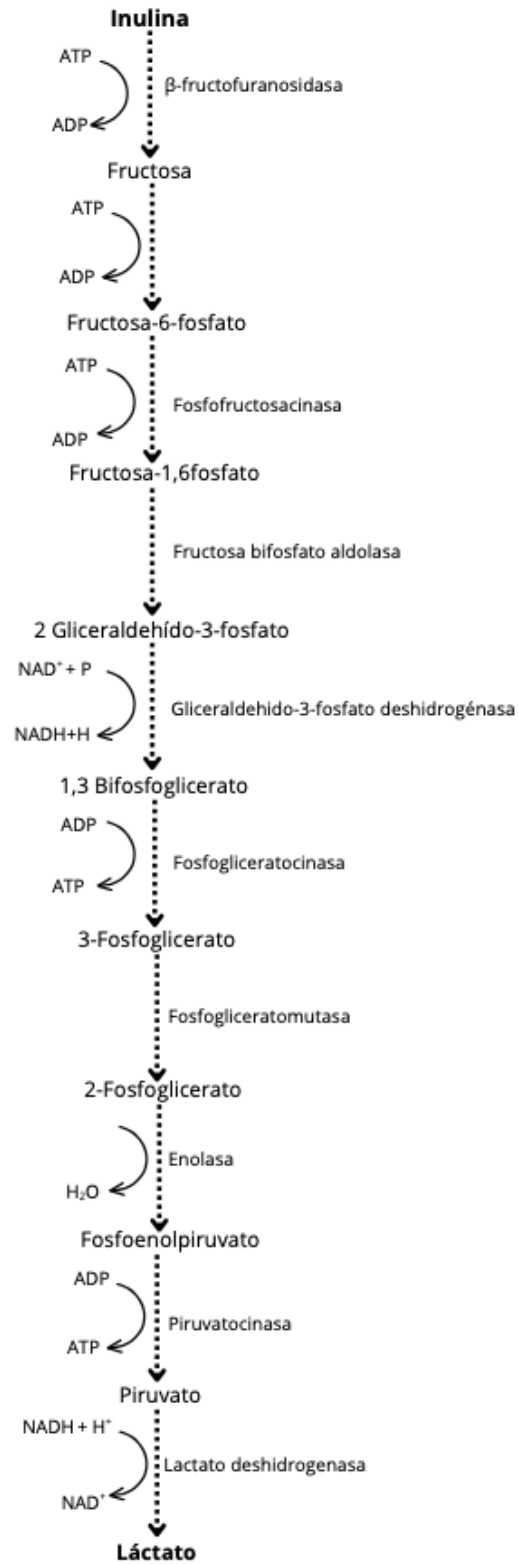


Figura 3. Ruta metabólica del ácido láctico, a partir de la inulina que contiene el aguamiel (adaptado de Petrov et al., 2017).

## Discusión

Tal y como se muestra en la Figura 1, en la región espectral de 1018 a 1105 se observa una banda de estiramiento de los grupos C-O y C-O-C, esto es característico de la inulina presente en aguamiel. Ortiz-Basurto et al. (2008) menciona que la inulina se encuentra en las salvias de los magueyes pulqueros, y es considerado un excelente prebiótico de las bacterias ácido lácticas (BAL), estas bacterias probióticas sobre todo del género *Lactiobacillus* y *Bifidobacterias* utilizan a la inulina como una fuente importante de carbono, para realizar una fermentación homoláctica y poder obtener como producto final al ácido láctico (Petrov et al., 2017).

La inulina es un polisacárido compuesto por cadenas de fructosa con una unidad terminal de glucosa (Ortiz-Basurto et al., 2008). Para que las BAL puedan utilizarla, es necesario descomponerla en sus monómeros (Capozzi et al., 2012). Dicha transformación se basa en una secuencia de pasos bioquímicos que permiten utilizar la inulina como fuente de carbono para la producción de energía y ácido láctico. Esta transformación se realiza con la siguiente ruta metabólica según McEwan et al. (2011) y que consta de 4 etapas, la primera es la Hidrólisis de la inulina, la inulina es un polisacárido compuesto principalmente por unidades de fructosa unidas por enlaces  $\beta$ - $(2\rightarrow1)$ , esta hidrólisis es catalizada por la inulinasa ( $\beta$ -fructofuranosidasa) una enzima que realiza el rompimiento de los enlaces glucosídicos entre las unidades de fructosa, donde es liberada en su mayoría como producto final a la fructosa y algunas unidades de glucosa, la segunda etapa es el Transporte de los azúcares al interior célula, estos monosacáridos resultantes son transportados por una (fosfotransferasa) (PTS) o transportadores específicos de fructosa y en el caso de la glucosa utilizan transportadores de glucosa muy comunes de las BAL, en la tercera etapa se realiza el metabolismo de los azúcares hidrolizados (glucólisis), una vez dentro de la célula, tanto la fructosa como la glucosa son metabolizados a través de la glucólisis por la vía Embden-Meyerhof-Parnas, la fructosa es convertida en fructosa-6-fosfato y posteriormente sigue la ruta glucolítica, con respecto a la glucosa, esta es fosforilada a glucosa-6-fosfato y continúa con la misma ruta; ambos azúcares son finalmente transformados en piruvato, por último, la etapa

4 donde es la producción de ácido láctico, el piruvato que se generó es reducido (NADH) a ácido láctico y  $\text{NAD}^+$  por la enzima lactato deshidrogenasa (LDH). Cabe mencionar que dicha reacción es crucial para regenerar  $\text{NAD}^+$ , que es necesario para mantener la glucólisis en funcionamiento.

A su vez, estudios han revelado que la conversión de piruvato a ácido láctico se realiza por medio de una fermentación láctica, con un proceso anaeróbico que permite la producción de energía en condiciones donde el oxígeno es limitado o ausente, y que muchas bacterias probióticas como *L. plantarum* y diferentes tipos de *Bacillus* spp., como es el caso de *B. mojavensis*, pueden generar con mayor o menor concentración al ácido L(+) o D(-) láctico durante la fermentación (Abedi & Hashemi, 2020).

Por otro lado, existen muchos factores que afectan la producción de ácido láctico, entre las principales se encuentran dos, una es la fuente de carbono (glucosa, fructosa, lactosa, sacarosa, y la inulina), una gran ventaja es que el aguamiel contiene todos carbohidratos a excepción de la lactosa (Flores-Morales et al., 2021; Ortiz-Basurto et al., 2008), sin embargo las BAL pueden utilizar diferentes rutas metabólicas dependiendo el carbohidrato que esté presente al momento de realizar la fermentación; también se debe cuidar el contenido de azúcares en el sustrato, para no generar inhibición por los efectos osmóticos negativos, y el segundo es el pH del medio, gran parte de las BAL prefieren un pH entre 5.0 a 6.5, es otra característica importante que tiene el aguamiel, su pH oscila entre 5 y 6.7, dependiendo de la época del año (González & Rojas, 2005; Romero-López et al, 2015), favoreciendo el crecimiento de las BAL y produciendo ácido láctico.

## Conclusiones

En conclusión, la utilización de aguamiel como sustrato en procesos fermentativos con bacterias ácido lácticas (BAL) nativas del pulque, permitió la producción eficiente de ácido láctico como metabolito primario, empleando la inulina como principal fuente de carbono. Entre las cepas evaluadas, *L. plantarum* demostró una mayor capacidad productiva. Los microfiltrados obtenidos tras la fermentación mostraron una actividad antimicrobiana frente a las tres cepas

patógenas estudiadas; no obstante, *S. aureus* ATCC 25923 presentó una mayor sensibilidad, evidenciado por los halos de inhibición más amplios en fermentados con *L. plantarum* como con *B. mojavensis*, lo que sugiere una mayor susceptibilidad en bacterias Gram positivas, a los compuestos bioactivos. El análisis espectroscópico mediante FT-IR reveló señales características de grupos C-O y C-O-C asociados a la presencia de inulina en el aguamiel. Cabe destacar que estos picos fueron menos intensos en los fermentados, lo cual podría atribuirse a la utilización de la inulina por parte de las BAL, como fuente energética para obtener ácido láctico. Estos resultados indican que los microfiltrados derivados de la fermentación del aguamiel con bacterias probióticas poseen potencial efecto antagonista contra bacterias patógenas de interés en el ámbito alimentario, sugiriendo aplicaciones relevantes en la bioconservación y seguridad alimentaria.

## Perspectivas

El presente estudio abre nuevas oportunidades en el aprovechamiento biotecnológico del aguamiel, una bebida tradicional endémica rica en inulina, como sustrato fermentable para la producción de metabolitos primarios y secundarios. La utilización de cepas nativas como *L. plantarum* y *B. mojavensis*, no solo optimiza procesos fermentativos, sino que también refuerza la importancia de la microbiota autóctona en el diseño de bioprocesos sostenibles.

Desde una perspectiva ambiental y económica, el uso de materias primas no convencionales como el aguamiel contribuye a la valorización de residuos agroindustriales del agave y a la diversificación de productos en comunidades rurales. Asimismo, la capacidad de los microfiltrados obtenidos para inhibir el crecimiento de bacterias patógenas representa un enfoque muy prometedor para el desarrollo de biopreservantes naturales en la industria alimentaria, minimizando el uso de conservadores sintéticos.

A nivel científico, los resultados de espectroscopía FT-IR confirman la transformación de componentes estructurales como la inulina durante la fermentación, lo cual podría estudiarse más a fondo mediante

técnicas complementarias como UHPLC-MS o metabolómica. Además, la diferencia en sensibilidad entre bacterias Gram positivas y Gram negativas a los filtrados, sugiere la presencia de compuestos bioactivos con posible aplicación en formulaciones antimicrobianas o funcionales.

Futuras investigaciones podrían centrarse en la optimización de las condiciones de fermentación, escalamiento del proceso, identificación detallada de compuestos bioactivos y evaluación *in vivo* del efecto postbiótico de los metabolitos generados.

## Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen intereses financieros o relaciones personales conocidos que pudieran haber influido en el trabajo descrito en este artículo.

## Referencias

Abedi E & Hashemi SMB (2020). Lactic acid production – producing microorganisms and substrates sources-state of art. *Heliyon*, 6(10).

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04974>

AlSheikh HMA, Sultan I, Kumar V, Rather IA, Al-Sheikh H, Tasleem JA & Haq QMR (2020). Plant-Based Phytochemicals as Possible Alternative to Antibiotics in Combating Bacterial Drug Resistance. *Antibiotics*, 9(8), 480.

<https://doi.org/10.3390/antibiotics9080480>

Álvarez J, Fernández JMR, Guarner F, Gueimonde M, Rodríguez JM, Saenz de Pipaon M & Sanz, YS. Microbiota Intestinal Y Salud. *Gastroenterología y Hepatología* 2022, 44, 519535, doi:<https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2021.01.009>.

AOAC, Association of Official Analytical Chemistry (2005). 18<sup>th</sup> Ed. Gaithersburg, MD (USA): AOAC International.

Bull MJM & Plummer NT (2014). Part 1: The human gut microbiome in health and disease. *Integrative. Medicine* (Encinitas) 13, 17–22.

Capozzi V, Russo P, Ladero V, Fernández M, Fiocco D, Alvarez MA, Grieco F & Spano G

(2012). Biogenic Amines Degradation by *Lactobacillus plantarum*: Toward a Potential Application in Wine. *Frontiers in Microbiology*, 3.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00122>

Carrillo-Tomalá C & Díaz-Torres R (2020). Actividad antimicrobiana de extractos hidroalcohólicos de hojas de dos variedades de *Mangifera indica* L. *Revista Ciencia Unemi*, 13(32), 69–77.  
<https://www.redalyc.org/journal/5826/582661898007/582661898007.pdf>

Cerero-Calvo C, Sánchez-Medina MA, Pérez-Santiago AD, Matías-Pérez D & García-Montalvo IA (2022). Probióticos presentes en bebidas fermentadas mexicanas. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 25, 1–13.  
<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.436>

Chikkerur J, Samanta AK, Kolte AP, Dhali A & Roy S (2019). Production of short chain fructooligosaccharides from inulin of chicory root using fungal endoinulinase. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 191(2), 695–715.  
<https://doi.org/10.1007/s12010-019-03215-7>

Domínguez-Avila JA, Villa-Rodríguez JA, Montiel-Herrera M, Pacheco-Ordaz R, Roopchand DE, Venema K & González-Aguilar GA (2020). Phenolic compounds promote diversity of gut microbiota and maintain colonic health. *Digestive Diseases and Sciences*,  
<https://doi.org/10.1007/s10620-020-06676-7>

Flores-Morales A, Chávez-Avila VM & Jiménez-Estrada M. (2021). Evaluation of an alternative propagation of maguey pulquero (*agave salmiana*) púa larga variety. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*, 8(1), 46–58.

González FT & Rojas HRA (2005). Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. *Salud Pública de México*, 47(5), 388–390.  
[https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342005000500010](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342005000500010)

García CA, Arrázola GS & Durango AM (2010). Producción de ácido láctico por vía

biotecnológica. *Temas Agrarios*, 15(2), 9–26.  
García-Ceja A, Mani-López E, Palou E & López-Malo A (2015). Viability during Refrigerated Storage in Selected Food Products and during Simulated Gastrointestinal Conditions of Individual and Combined *Lactobacilli* Encapsulated in Alginate or Alginate-Chitosan. *LWT - Food Science and Technology*, 63, 482–489,  
[doi:https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.071](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.071).

García-Pérez AL, Ulloa-Pérez MI & Cano-González CN (2023). Caracterización de la inulina comercial y su implementación alimentaria en personas con el trastorno del espectro autista. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(5), 140–150.  
[https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v7i5.7631](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i5.7631)

Giles-Gómez M, Morales-Huerta X, Pastelin-Palacios R, López-Macías C, Flores-Montesinos MS, Astudillo-Melgar F & Escalante A (2024). Analysis of the probiotic potential of *Lactiplantibacillus plantarum* LB1\_P46 isolated from the Mexican fermented pulque beverage: A functional and genomic analysis. *Microorganisms*, 12(8), 1652.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms12081652>

Guadarrama-Ortíz P, Flores-Vázquez JC, Carnalla-Cortés M & Choreño-Parra JA (2018). Probióticos ¿coadyuvantes en el tratamiento médico?. *Medicina Interna de México*, 34(4), 574–581.  
<https://doi.org/10.24245/mim.v34i4.1878>

Guedes BN, Krambeck K, Durazzo A, Lucarini M, Santini A, Fathi F & Souto EB (2024). Natural antibiotics against antimicrobial resistance: sources and bioinspired delivery systems. *Brazilian Journal of Microbiology*.  
<https://doi.org/10.1007/s42770-024-01410-1>

Huezo-Sánchez AR, Ortega-Rodríguez EM, Pérez-Armendáriz B & El-Kassis EG (2023). Characterization of bacterial diversity in aguamiel and two types of pulque from the Zacatlán region, México. *Fermentation*, 9(6), 564.  
<https://doi.org/10.3390/fermentation9060564>

Jung JI, Baek SM, Nguyen TH, Kim JW, Kang CH, Kim S & Imm JY (2021). Efectos del sobrenadante de cultivo probiótico en la

formación de biopelículas cariogénicas y la osteoclastogénesis inducida por RANKL en macrófagos RAW 264.7. *Molecules*, 26 (3), 733.

<https://doi.org/10.3390/molecules26030733>

Krishnamurthy HK, Pereira M, Bosco J, George J, Jayaraman V & Krishna K (2023). Gut commensals and their metabolites in health and disease. *Front Microbiol.* 14: 1244293.

López GTJ, Sarabia AB, Aké B, Gutiérrez Alcántara EJ & Pérez BR (2023). *Bacillus mojavensis*: Productor de biosurfactantes con actividad contra *Colletotrichum gloeosporioides* Penz & Sacc var. Minor Simmonds. *Athena Editor* (16–22).

Loyo RJ, Cruz RM & Pedraza R (2020). Extracción y comparación de fructanos en ajos y cebollas. *Revista Nthe*, Edición Especial, 74, 74–81.  
[http://nthe.mx/NTHE\\_v2/pdfArticulos/PDF\\_Articulo20201119173436.pdf](http://nthe.mx/NTHE_v2/pdfArticulos/PDF_Articulo20201119173436.pdf)

McEwan AG, Djoko KY, Chen NH, Couñago RLM, Kidd SP, Potter AJ & Jennings MP (2011). Novel bacterial MerR-Like regulators. *Advances in Microbial Physiology*, 1–22.  
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-381043-4.00001-5>

Moreno CCM, Valladares-García J & Halabe-Cherem J (2018). Microbioma humano. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 61.  
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.22201.fm.24484865e.2018.61.6.02>

Mudannayake DC, Wimalasiri KMS, Silva KFST & Ajlouni S (2015). Comparison of properties of new Sources of partially purified inulin to those of commercially pure chicory inulin. *Journal of Food Science*, 80(5), 950–960.  
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.12857>

Petrov K, Popova L & Petrova P (2017). High lactic acid and fructose production via Mn<sup>2+</sup>-mediated conversion of inulin by *Lactobacillus paracasei*. *Applied microbiology and biotechnology*, 101(11), 4433–4445.  
<https://doi.org/10.1007/s00253-017-8238-0>

Romero-López MR, Osorio-Díaz P, Flores-Morales A, Robledo N & Mora-Escobedo R (2015). Composición química, capacidad antioxidante y el efecto prebiótico del aguamiel (*Agave atrovirens*) durante su fermentación *in vitro*. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 14(2), 281–292.  
<https://www.researchgate.net/publication/281455360>

Rossoni RD, Velloso MS, de Barros PP, de Alvarenga JA, Santos JD, Santos PACC, Ribeiro FC, Anbinder AL & Junqueira JC (2018). Inhibitory effect of probiotic *Lactobacillus* supernatants from the oral cavity on *Streptococcus mutans* biofilms. *Microbial Pathogenesis*, 123, 361–367.  
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.07.032>

Salomé-Abarca LF, Márquez-López RE & López MG (2023). Agave amica a potential model for the study of agavins metabolism. *Scientific Reports*, 13(1).  
<https://doi.org/10.1038/s41598-023-47062-3>

Suez J, Zmora N & Elinav E (2019). The pros and cons of probiotics. *Nature Reviews Microbiology*, 17(10), 1–12.  
<https://doi.org/10.1038/s41564-019-0506-2>.

Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR & Macia L (2014). The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Advances in Immunology*, 121, 91–119.  
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-800100-4.00003-9>

Wongsa P, Phatikulrungsun P & Prathumthong S (2022). FT-IR characteristics, phenolic profiles and inhibitory potential against digestive enzymes of 25 herbal infusions. *Scientific Reports*, 12(1).  
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-10669-z>

You-Lin T, Sam KCC, Jin-Xian L, Yu-Wei C, Hung-Tse H, Yu-Lun L & Chih-Yao H (2021). Synthesis of short-chain-fatty-acid resveratrol esters and their antioxidant properties. *Antioxidants*, 10(3), 420–420.  
<https://doi.org/10.3390/antiox10030420>