

## POTENCIAL PROBIÓTICO DE BACTERIAS AISLADAS DEL PULQUE: UNA REVISIÓN

González Mesillas F<sup>a\*</sup>, Vázquez Castro P<sup>b.</sup>, Jaimez Ordaz J<sup>b.</sup>, Zúñiga Juárez M. A.<sup>b.</sup>

<sup>a</sup> Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Centro de Investigaciones Químicas, Carretera Pachuca-Tulancingo Km 4.5, C.P. 42184, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México.

[\\*francisco.gon.mes@gmail.com](mailto:francisco.gon.mes@gmail.com)

### RESUMEN

El pulque es una bebida que se obtiene a partir de la fermentación de los azúcares presentes en el aguamiel del agave; de esta bebida es posible aislar cepas de microorganismos con potencial probiótico, los cuales son organismos vivos que al ser ingeridos en cantidades adecuadas proporcionan un beneficio al huésped que lo consume. De ahí la idea de incorporar a nuestra alimentación una mayor variedad de alimentos que brinden algún beneficio para combatir los problemas gastrointestinales. Estos microorganismos deben de cubrir ciertos criterios para ser considerados probióticos, como la resistencia a las sales biliares, pH ácido y jugos gástricos. El siguiente trabajo muestra una comparación de diferentes cepas aisladas a partir del pulque y su resistencia a estos criterios para comprobar su potencial probiótico.

### ABSTRACT

*Pulque* is a drink obtained from the fermentation of sugars in the agave mead; from this drink it is possible to isolate strains of microorganisms with probiotic potential, these are living organisms which when ingested in adequate amounts will provide a benefit to the host. Hence the idea of bringing to our diet a greater variety of foods that gives us some benefit to combat gastrointestinal problems. These microorganisms must accomplish certain criteria to be considered as probiotics, such as resistance to bile salts, low pH and acid gastric juices. The following paper shows a comparison of different strains isolated from *pulque* and their resistance to these criteria to check their probiotic potential.

### Palabras clave:

*Pulque*, probiótico, microorganismos

Área: Otros

### INTRODUCCIÓN

El pulque es una bebida tradicional mexicana que se produce a partir de la fermentación de la savia o aguamiel, extraída de diferentes especies de magueyes, como lo son:

*Agave americana*, *A. atrovirens*, *A. ferox*, *A. mapisaga* y *A. salmiana* (Campos *et al.*, 2009).

Uno de los principales componentes de estas especies de maguey son los azúcares, principalmente la sacarosa y la glucosa, las cuales se encuentran en mayor concentración cuando el estado de maduración del maguey esta entre los 7 y 8 años de edad.

La fermentación de los azúcares se inicia en el agave gracias a los microorganismos que forman parte de la flora microbiana del mismo maguey. Al iniciarse la fermentación, los cambios químicos que se presentan en el sustrato propician el desarrollo y sucesión de diversos grupos microbianos, como levaduras, bacterias lácticas, bacterias etanólicas y bacterias productoras de exopolisacáridos. El tiempo de fermentación puede durar de 12 a 48 horas. A medida que pasa el tiempo se presentan cambios importantes como un incremento en el porcentaje de alcohol y formación de exopolisacáridos (Cervantes, 2008).

Los principales microorganismos presentes en el pulque incluyen géneros como *Lactobacilos*, los cuales incrementan la acidez láctica del pulque y *Leuconostoc (mesenteroides)* y *dextranicum*), responsables de la viscosidad de la bebida así como cepas de *Saccharomyces carbajail sp.*, el cual es un fermentador alcohólico; y *Pseudomonas lindneri*, principales productoras de etanol. Algunos de estos géneros microbianos presentan potencial probiótico (Herrera *et al.*, 2009).

Los probióticos se han definido como microorganismos vivos o compuestos que participan en el balance y desarrollo microbiano intestinal, mediante diferentes mecanismos. También se les conoce como bioterapéuticos, bioprotectores o bioprofilácticos, ya que se han utilizado para prevenir infecciones entéricas y gastrointestinales (León-de la O. *et al.*, 2012).

Los microorganismos probióticos han capturado la atención de la comunidad científica debido al valor que han demostrado tener en la prevención y solución de algunos problemas de salud. Algunos de los microorganismos que se encuentran en el pulque presentan potencial probiótico. Sin embargo, existe poca información acerca de su comportamiento bajo condiciones que emulan las condiciones del sistema digestivo. Teniendo en cuenta lo anterior, el objetivo de esta revisión consiste en comparar la resistencia a la acidez, sales biliares y jugos gástricos, de microorganismos aislados de pulque provenientes de 4 zonas diferentes de México descrita por diferentes autores.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestras

Pulque procedente de distintas zonas geográficas de México. En la tabla I se presentan las zonas de procedencia de las muestras de pulque utilizado para la obtención de cepas con potencial probiótico reportadas en los trabajos revisados.

**Tabla I. Zonas de procedencia de las muestras de pulque utilizado para la obtención de cepas con potencial probiótico**

| Autor (es)                        | Zona de procedencia del pulque  |
|-----------------------------------|---------------------------------|
| Campos <i>et al.</i> , 2009       | Huitzulac, Morelos              |
| Sarria <i>et al.</i> , 2010       | Ciudad de México                |
| León de la O <i>et al.</i> , 2012 | Zona Metropolitana, México D.F. |
| Mendoza, 2013                     | Mineral de la Reforma, Hidalgo  |

### Microorganismos analizados

Los microorganismos estudiados para determinar el potencial probiótico en los trabajos revisados incluyen cepas de bacterias ácido lácticas (Campos *et al.*, 2009); de bacilos (Gram positivos) (León- de la O. *et al.*, 2012); de lactobacilos (Sarria *et al.* 2009), de cocos (Gram positivos) (León- de la O. *et al.*, 2012), y de levaduras (León-de la O. *et al.*, 2012, Mendoza, 2013), una de ellas identificada como *Kluyveromyces marxianus* (Mendoza, 2013).

### Aislamiento de las cepas analizadas

Para el aislamiento de dichos microorganismos se utilizó agua peptonada como diluyente (León- de la O. *et al.*, 2012) y medios de cultivo tales como agar Yeast Peptone Glucose (YPG), Macconkey, y agar soya tripticaseina (AST) (León-de la O. *et al.*, 2012)), de Man, Rugosa y Sharpe (MRS) (Campos, 2009; León de la O. *et al.*, 2012). Las cepas purificadas se conservaron en glicerol a -70°C (Campos, 2009; Sarria, 2010). En el caso de *K. marxianus*, se partió de una cepa aislada y purificada previamente la cual se conservó a 4°C (Mendoza, 2013).

### Determinación del potencial probiótico

Los criterios utilizados para determinar el potencial probiótico de las cepas aisladas fueron: resistencia a la acidez (a diferentes temperaturas y tiempos de exposición), a las sales biliares (a diferentes concentraciones) y a los jugos gástricos (diferentes

concentraciones y composición). Las condiciones estudiadas se muestran en las tablas II, III y IV.

### Resistencia a acidez

**Tabla II. Condiciones para la evaluación de la resistencia de las cepas a la acidez**

| Autor                              | pH                        | Temperatura (°C) | Tiempo de exposición (horas) |
|------------------------------------|---------------------------|------------------|------------------------------|
| Campos. <i>et al.</i> , 2009       | 3.5                       | 30               | 6                            |
| Sarria. <i>et al.</i> , 2010       | 1.5, 3, 6.5               | N.E              | 0,1,2,4                      |
| León de la O. <i>et al.</i> , 2012 | 2                         | 28               | 24                           |
| Mendoza. <i>et al.</i> , 2013      | 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4 | 37               | 24                           |

NE: no especificado

### Resistencia a sales biliares

**Tabla III. Condiciones para la evaluación de la resistencia de las cepas a las sales biliares.**

| Autor                              | Concentración (%)                      | Composición        | Tiempo (horas) | Temperatura de exposición (°C) | Concentración de cepa (UFC/mL) |
|------------------------------------|--|--------------------|----------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Campos. <i>et al.</i> , 2009       | 0.3                                    | NE                 | 6              | 20                             | 1 x 10 <sup>8</sup>            |
| Sarria. <i>et al.</i> , 2010       | Simulación del tracto gastrointestinal | Oxgall (2%)        | 0 - 4          | NE                             | 1 x 10 <sup>8</sup>            |
| León de la O. <i>et al.</i> , 2012 | NR                                     | -                  | -              | -                              | -                              |
| Mendoza. <i>et al.</i> , 2013      | 0.05 - 0.30                            | Bile Oxgal (Difco) | 24             | 37                             | 1 x 10 <sup>8</sup>            |

NR: no realizada.  
NE: no especificado.

**Resistencia a jugos gástricos.**

**Tabla IV. Condiciones para la evaluación de la resistencia de las cepas al jugo gástrico.**

| Autor                              | Concentración                          | Composición   | Tiempo de exposición (horas) | Temperatura (°C) | Concentración de cepa (UFC/mL) |
|------------------------------------|--|---|------------------------------|------------------|--------------------------------|
| Campos. <i>et al.</i> , 2009       | NR                                     | -   | -                            | -                | -                              |
| Sarria. <i>et al.</i> , 2010       | Simulación del tracto gastrointestinal | NE  | 0 - 4                        | NE               | 1 x 10 <sup>8</sup>            |
| León de la O. <i>et al.</i> , 2012 | 9 mL                                   | NaCl (2g/L) y pepsina (3.2 g/L) ajustando a pH final de 2 HCl                             | 24                           | 28 ± 2           | 1 x 10 <sup>8</sup>            |
| Mendoza. <i>et al.</i> , 2013      | 9 mL                                   | NaCl (0.2 g) y pepsina (0.32g) en 80 mL de agua destilada. El pH se ajustó a 1.5 con HCl. | 0 - 24                       | 37               | 1 x 10 <sup>8</sup>            |

NR: no realizada.  
NE: no especificado

**Sobrevivencia de las cepas estudiadas bajo las condiciones de prueba (cepas con potencial probiótico).**

**Tabla V. Resistencia de las cepas estudiadas a la acidez, sales biliares y jugos gástricos.**

| Autor                              | Total de cepas estudiadas    | Total de cepas resistentes  |  |  |
|------------------------------------|------------------------------|---|--|--|
|                                    |                              | Acidez  | Sales biliares   | Jugo gástrico  |
| Campos. <i>et al.</i> , 2009       | 25                           | Dos cepas de BAL presentaron resistencia, diplococo Gram positivo.                    | Sólo una cepa diplococo Gram positivo presentó resistencia.                              | NR   |
| Sarria. <i>et al.</i> , 2010       | 4                            | Todas las cepas sobrevivieron a un pH de 3.0 y sólo una cepa resistió a un pH de 1.5. | Tres cepas pertenecientes al género <i>Lactobacillus</i> resistieron las sales biliares. | Todas las cepas sobrevivieron.   |
| León de la O. <i>et al.</i> , 2012 | 8                            | Una levadura y un bacilo Gram positivo presentaron resistencia.                       | NR   | Una levadura y un bacilo Gram positivo presentaron resistencia.  |
| Mendoza. <i>et al.</i> , 2013      | Levadura <i>K. marxianus</i> | La levadura es capaz de crecer en todos los valores de pH.                            | La levadura fue capaz de crecer en todas las concentraciones de sales biliares.          | Existe una disminución de las UFC cuando la acidificación del medio aumenta. No se inhibe por completo su crecimiento. |

NR: no realizada.

BAL: bacterias ácido lácticas.

## CONCLUSIÓN

La microflora presente de manera natural en el pulque, independientemente del lugar de origen, incluye microorganismos que presentan potencial probiótico con ventajas sobre algunos probióticos presentes en diferentes productos comerciales

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Campos I, Escalante A. and Giles Gómez M. 2009. Aislamiento e identificación de bacterias lácticas del pulque con capacidad probiótica. XIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería (online). Disponible en [http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/ÁREA\\_III/CIII-30.pdf](http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/ÁREA_III/CIII-30.pdf)
- [2] Cervantes M. and Pedroza 2008. Caracterización microbiológica del pulque y cuantificación de su contenido de etanol mediante espectroscopia de Raman. *Superficies y Vacío*, 20(3): 1-5.
- [3] Escalante A, Rodríguez ME, and Giles GM. 2009. Bacterial diversity during the fermentation of pulque, a mexican traditional non-distilled alcoholic beverage: Discovery of new microorganisms with biotechnological perspectives. XIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería (online). Disponible en [http://smbb.com.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/simposios/simposio\\_bebidas\\_mexicanas/ADELFO\\_ESCALANTE.pdf](http://smbb.com.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/simposios/simposio_bebidas_mexicanas/ADELFO_ESCALANTE.pdf)

- [4]Gómez ACA, Díaz CC, Villaruel L, Torres VR, Añorve MJ, Rangel VE, Cerna CJ, Vigueras RG, and Castro RJ. 2010. Behavior of Salmonella Typhimurium, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes and Shigella flexneri and Shigella sonnei during production of pulque, a traditional Mexican Beverage. *Journal of Food Protection*, 74 (4): 580-587.
- [5]Gómez ACA, Díaz CC, Villarruel LA, Torres VR, Rangel VE. and Castro RJ. 2011. Acid and alcohol tolerance of Escherichia coli O157:H7 in pulque, a typical Mexican beverage. *International Journal of Food Microbiology*, 154(1-2):79-84.
- [6]León-de la O DI, Méndez CDS, Rodríguez PDP. 2012. Análisis bromatológico y aislamiento de microorganismos con potencial probiótico del pulque. *Investigación universitaria multidisciplinaria*, 11: 115-122.
- [7]Mendoza GAS. 2013. Caracterización de la levadura Kluyveromyces Marxianus como microorganismo probiótico. [Tesis de Maestría]. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (online). Disponible en <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/231104/1862/1/TESIS%20SEL.pdf>
- [8]Robert KN. 2012. Fermenting identities: Race and pulque politics in México City between 1519 and 1754 (online) Disponible en <http://encompass.eku.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1067&context=etd>
- [9]Sánchez MA and Hope HP. 1953. Fermentation and chemical composition studies of some species, *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 1 (3): 246-249.
- [10]Sarría GY, Azaola EA, Mayorga RL and Rivera EY. 2010. Estudio del potencial probiótico de las bacterias aisladas del pulque. XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería (online). Disponible en <http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/queretaro11/TRABAJOS/trabajos/III/orales/OIII-09.pdf>