

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA, MICROBIOLÓGICA Y ORGANOLÉPTICA DEL AGUAMIEL Y PULQUE DEL ALTO MEZQUITAL, HIDALGO

Carmen Medina-Mendoza^{1*}, Edgar Iván Roldán-Cruz², Mauro Vázquez-Jahuey¹

¹Universidad Tecnológica del Valle del Mezquital (UTVM). Carretera Ixmiquilpan-Capula Km. 4, El Nith 42300 Ixmiquilpan, Hidalgo.

²Cátedra Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología/El Colegio del Estado de Hidalgo (CONACYT/CEH). Parque Científico y Tecnológico del Estado de Hidalgo. Boulevard Circuito la Concepción, Exhacienda de la Concepción número 3, 42162, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo.

*Autor de correspondencia: cmedina@utvm.edu.mx

RESUMEN

La producción de pulque en la región del Alto Mezquital, Hidalgo, representa una fuente importante de ingresos económicos entre los productores de maguey xamini (*Agave salmiana*). Esta bebida es elaborada principalmente por personas adultas de forma tradicional. El aguamiel tiene un alto contenido de proteínas y el pulque por su composición permite el crecimiento de bacterias probióticas, ambos, con alto valor nutricional e inclusive medicinal. El objetivo del presente estudio fue realizar la caracterización fisicoquímica, microbiológica y organoléptica del aguamiel y pulque de la región del Alto Mezquital, y documentar el proceso para la extracción del aguamiel y elaboración del pulque. Se identificaron productores que elaboran de forma tradicional el pulque, se aplicó una entrevista a fin de conocer los procesos para la elaboración de la bebida, posteriormente, se tomaron muestras para realizar los análisis en laboratorio. Como parte de los resultados, se documentó el proceso de la elaboración del pulque para la región de estudio. Los análisis fisicoquímicos, permitieron clasificar al pulque con los estándares de calidad de acuerdo a la NMX-V-037-1972, para el caso del aguamiel la referencia fue la NMX-V-022-1972, lo anterior permitió identificarla dentro de la calidad I. Se evaluó el contenido de levaduras y bacterias lácticas en aguamiel, semilla, punta y pulque comercial, finalmente, la evaluación sensorial permitió caracterizar las propiedades organolépticas del pulque del Alto Mezquital. Por lo tanto, se concluye que el aguamiel y pulque de la región de estudio, presentan un alto valor nutrimental, con características ideales para su aprovechamiento en la industria alimentaria, biotecnológica y medicinal.

Palabras clave: calidad, evaluación sensorial, normas, parámetros, valor nutricional.

INTRODUCCIÓN

El pulque es una bebida alcohólica mexicana de color blanco, con olor fuerte y viscoso, producida a partir de la fermentación de la savia azucarada del maguey xamini (*Agave salmiana*), conocido como aguamiel, en donde fluctúan microorganismos en abundancia y diversidad para el desarrollo de este proceso (Chacón *et al.*, 2020). Evidencias arqueológicas sugieren que fue utilizado en la dieta alimenticia de la antigua Teotihuacán (150 a. C y 650 d. C.) (Correa *et al.*, 2014), varios historiadores consideran que esta bebida alcohólica es la más antigua de México, y que la cultura otomí fue la primera en elaborarla hacia el año 2000 a. C., (Valadez *et al.*, 2012). Los primeros estudios sistemáticos realizados sobre los beneficios nutricionales del pulque se realizaron a una población de consumidores con una ingesta regular en la población indígena-otomí del Valle del Mezquital, Hidalgo, en

Citation: Medina-Mendoza C, Roldán-Cruz EI, Vázquez-Jahuey M. 2022. Caracterización fisicoquímica, microbiológica y organoléptica del aguamiel y pulque del Alto Mezquital, Hidalgo. Agricultura, Sociedad y Desarrollo <https://doi.org/10.22231/asyd.v19i4.1412>

ASyD 19(4): 448-462

Editor in Chief:
Dr. Benito Ramírez Valverde

Received: March 05, 2022.

Approved: April 04, 2022.

Estimated publication date:

February 02, 2023.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license.



donde el pulque es el segundo alimento más importante después de la tortilla, destacando el aporte de vitamina C, proteínas, calorías, aminoácidos, calcio y hierro (Anderson *et al.*, 1946), dentro de la región el pulque es utilizado durante la lactancia y postparto como aporte de nutrientes y energía. En la actualidad el pulque es una bebida popular, su consumo varía de acuerdo a la edad y el tipo de consumidor y actualmente ha tomado especial interés debido a sus propiedades nutricionales.

En los últimos años se ha tenido especial interés en conocer el valor nutrimental y funcional del aguamiel y pulque, debido a que poseen sustancias muy variadas, diversos autores han analizado ambas bebidas a fin de conocer sus aportes nutrimentales, dentro de los principales componentes en pulque son: sacarosa, gomas, cenizas, ácido pantoténico, tiamina, ácido 4-aminobenzoico, piridoxina, biotina, ácido ascórbico, riboflavina, proteína (Escalante *et al.*, 2008; Tovar *et al.*, 2008), aminoácidos (isoleucina, leucina, lisina, cisteína, fenilalanina, tirosina, treonina, triptófano, valina, metionina e histidina) (Morales de León *et al.*, 2005; Ortiz *et al.*, 2008). Dentro de los componentes del aguamiel se encuentra: la fibra cruda, proteínas, carbohidratos altamente digeribles, minerales (N, Ca, P, Mg, Fe, Zn, Cu y B), inulina, fructanos, azúcares (sacarosa, fructosa, glucosa y fructooligosacáridos) (Velázquez *et al.*, 2014). Debido a la gran cantidad de componentes alimenticios en el aguamiel y pulque, es que se tiene mayor interés, además de presentar bajo índice glucémico y efectos benéficos en la salud (Santos *et al.*, 2016). Por otro lado, el aguamiel y pulque son una fuente de microorganismos con alto potencial biotecnológico, sus propiedades nutrimentales, pro y prebióticas confiere beneficios sobre el sistema digestivo de humanos, como reductores de enzimas involucradas en cáncer gástrico y antimicrobianos (Castro *et al.*, 2015a; Correa *et al.*, 2014). El proceso de producción del pulque involucra tres fermentaciones: ácido, alcohólico y viscoso, los microorganismos involucrados tienen potencial como transportadores de azúcar, enzimas hidrolíticas, exopolisacáridos, ácido láctico o productoras de etanol, los cuales pueden ser aislados de esta bebida (Escalante *et al.*, 2012). Los microorganismos involucrados en la fermentación se encuentran de forma natural en el aguamiel y son los mismos que prevalecen durante la recolección, transporte, inoculación y manipulación, entre los más comunes son; varias especies de levaduras y bacterias, que incluyen a la bacteria ácido láctica homo y hetero fermentativas, la bacteria productora del alcohol *Zymomonas mobilis* y la bacteria productora de dextrano *Leuconostoc mesenteroides* (Castro *et al.*, 2015a). Recientemente se le ha considerado como un producto probiótico, debido a la presencia de una gran población de bacterias ácido lácticas como *Lactobacillus acidophilus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Zymomonas mobilis* (Castro *et al.*, 2015b), debido a sus características se considera como alimento de alto valor nutrimental, la combinación de macro y micronutrientes en conjunto con las bacterias ácido lácticas le confieren propiedades pre y probióticas (Correa *et al.*, 2014; Escalante *et al.*, 2012).

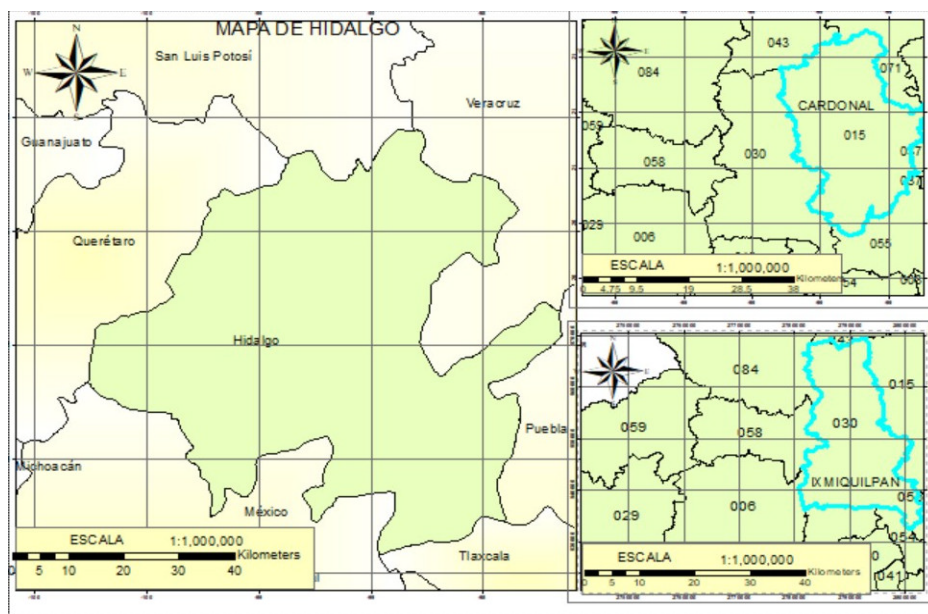
La forma tradicional de elaboración del pulque consiste en añadir una cantidad pequeña de producto maduro o semilla (pulque previamente producido) al inicio de una nueva fermentación, que permite la reproducción de estas comunidades microbianas benéficas y su transformación metabólica a alimento y bebida (Wolfe y Dutton, 2015). El tiempo para

el proceso de fermentación alcohólica varía de pocas y hasta 48 horas, a una temperatura promedio de 24 °C dependiendo de la cantidad y calidad del aguamiel colectado, dicho proceso ha concluido una vez que la espuma cesa y comienza la fermentación acética, observándose una capa densa (Escalante *et al.*, 2016; Lappe *et al.*, 2008). El desarrollo de la viscosidad se produce por la síntesis de exopolisacáridos y ha sido el principal criterio para determinar el grado de fermentación, dando lugar a un pulque fresco o maduro según corresponda, estos procesos no incluyen la adición de conservadores (Valadez *et al.*, 2012). El proceso termina cuando la bebida alcanza tanto el grado alcohólico, la densidad, el índice de refracción, los sólidos totales, las azúcares, las gomas y la acidez total -según lo establecido en la NMX-V-037/Secretaría de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI) (SECOFI-1972b).

A pesar de que el aguamiel y el pulque son bebidas con características y propiedades de interés, existe escasa información documentada con respecto al proceso de elaboración de acuerdo a las diferentes regiones, en donde aún continúan realizando esta bebida de forma tradicional, así como de los factores que dan origen a las características organolépticas de la bebida, como lo es la misma planta y sus condiciones agroclimáticas en donde se desarrolla. La región del Alto Mezquital y la cultura otomí preserva dichos saberes entorno a la elaboración del pulque, es por ello importante su rescate y documentar dichos procesos. En la investigación se contemplan aspectos del proceso de extracción del aguamiel y elaboración del pulque, los análisis fisicoquímicos, microbiológicos y organolépticos. Como es bien sabido el patrimonio gastronómico constituido por el maguey, el aguamiel y el pulque tienen importancia como patrimonio cultural, sin embargo, se ha desvalorizado y ha sido desplazado por otras bebidas. Una de las causas que han impactado negativamente en el consumo del pulque, es la falta de difusión de sus propiedades nutrimentales. Es por ello, que el presente trabajo tiene como objetivo describir el proceso de elaboración del pulque elaborado en la región del Alto Mezquital y analizar sus características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas. La hipótesis planteada es que el aguamiel y pulque que se producen en el Alto Mezquital presentan características y propiedades de interés por su alto valor nutricional y como alimento nutraceutico.

MATERIALES Y MÉTODOS

La región de estudio fue el Alto Mezquital (Ixmiquilpan y Cardonal), Hidalgo (Figura 1). La primera etapa del estudio consistió en identificar a los principales productores de pulque que elaboran el proceso de manera tradicional, 20 productores. Debido a que el estado de Hidalgo no cuenta con un padrón de productores, se realizó una visita a las autoridades municipales con la finalidad proporcionarnos información de sus productores de pulque, se seleccionaron aquellos que contaban con mayor experiencia de acuerdo a la métrica establecida durante la aplicación de un cuestionario de 20 preguntas, principalmente enfocadas a conocer las características y preparación de la planta para la extracción de aguamiel y elaboración del pulque. La segunda etapa fue, recolectar las muestras de pulque por triplicado de los 20 productores, en frascos shot tapa rosca de 200 mL, se consideró 50 mL para cada etapa del proceso; aguamiel (líquido extraído de la cepa del



Fuente: elaboración propia.

Figura 1. Mapa de ubicación de los municipios de Cardonal e Ixmiquilpan, Hidalgo.

maguey), semilla (pulque fermentado por al menos 4 días), punta (resultado de aguamiel y pulque 1:1 de 24 horas) y pulque comercial (pulque de 48 horas). Las muestras se tomaron conforme a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-SSA1-109-1994 (Bienes y servicios) y se transportaron al laboratorio para su análisis. Los análisis fisicoquímicos, microbiológicos y organolépticos se realizaron en la Universidad Tecnológica del Valle del Mezquital (UTVM), de acuerdo a las siguientes condiciones.

Determinación de grados Brix. Se realizó con el refractómetro, se agregó una gota de pulque en el prisma del refractómetro (marca A.S.T.) y se observó a contra luz para leer los resultados en grados Brix.

Determinación de grados de alcohol. Se colocó una muestra de 250 mL de pulque en la probeta y seguido de esto se introdujo el alcoholímetro (marca Gay-Lussac) para observar el grado alcohólico que contenía, a través de su densidad.

Determinación de acidez (ácido láctico). Se tomó una muestra de 9 mL dentro de un matraz Erlenmeyer de 125 mL, se le agregaron 4 gotas fenolftaleína, posteriormente se llevó a cabo la prueba de acidez por titulación con 25 mL de NaOH al 0.1 N, hasta presentar un tono ligeramente rosa.

Determinación de la viscosidad. Se añadió 5 mL de la muestra por el capilar en un viscosímetro de Ostwald, con una jeringa se succionó la muestra líquida hasta el punto A; desde ahí se midió el tiempo hasta que bajara al punto B.

Determinación de densidad. Se midió con la ayuda de un picnómetro (25.95 mL de volumen) y se agregó la muestra utilizando una pipeta de 5 mL.

Determinación de pH. Se tomó una muestra de 25 mL de pulque en un vaso de precipitados y se colocó dentro de ella una varilla indicadora de pH (marca COCIBA); se mantuvo en la espera por 2 minutos aproximadamente para obtener los resultados.

Extracción de etanol. La fracción etanólica contenida en 100 mL de pulque se destiló mediante un rota vapor a 60°C, se utilizó un alcoholímetro para calcular el contenido de alcohol, se midió a diferentes horas, a fin de evaluar el proceso de fermentación.

Determinación de azúcares totales. Se realizó por el método de antrona, descrito por Witham *et al.*, (1971). La absorbencia se leyó a 600 nm en un espectrofotómetro. La concentración de azúcares se estimó a partir de una curva patrón de 20 a 200 µg de glucosa mL⁻¹.

Determinación de humedad y cenizas totales. Se realizó por el método de secado en charolas, 5 mL de muestra de pulque mezclado, en charolas de aluminio a peso constante, se pesó cada dos horas hasta obtener un peso constante. La muestra seca se incineró en mufla a 800 °C hasta obtener cenizas blancas

Determinación de proteínas. Se utilizó un digestor de proteínas marca NOVATECH. Se aplicó el método Kjeldahl para analizar nitrógeno orgánico. En esta técnica se digieren las proteínas del pulque líquido o en polvo y otros componentes orgánicos con ácido sulfúrico en presencia de catalizadores como sulfato de potasio y sulfato de cobre. El nitrógeno orgánico total es convertido en sulfato de amonio. La mezcla digerida se neutraliza con hidróxido de sodio al 30% y se destila posteriormente en una solución de ácido bórico al 3%. Los aniones del borato así formados se titulan con ácido clorhídrico normalizado (HCl 0.1 N), los cuales se convierte en el nitrógeno de la muestra.

Aislamiento de microorganismos. Se realizaron diluciones 10⁻¹ hasta 10⁻³ del pulque utilizando como diluyente agua peptonada. Las tres diluciones se sembraron por dispersión en placa usando varilla acodada en cajas Petri con agar Yeast Peptone Glucose (YPG), Macconkey, de Man, Rugosa y Sharpe (MRS) y agar soya tripticaseína (AST). Las cajas se incubaron a 30°C durante 42 horas. Se obtuvieron cultivos puros de cada cepa por resiembras. Las cepas puras se sembraron por estría cruzada en los diferentes medios para observar el cambio de la morfología.

Resistencia y crecimiento en pH ácido. Se evaluó la tolerancia a distintos valores de pH en tres matraces de 250 mL con 90 mL de caldo YPG, formulado con extracto de levadura (Bioxon) 1% (p/v), peptona (Bioxon) 2% (p/v) y glucosa (Reasol) 2% (p/v) y tres matraces de MRS (Difco) con pH 2 con HCl concentrado y se montaron controles para cada medio. Cada matraz, se inoculó con una dilución de 10⁻³ del pulque diluido con agua peptonada (Difco), al 10% (Ortiz *et al.*, 2008). Las muestras se incubaron a 28 ± 2°C durante 24 horas, finalmente se observó el crecimiento microbiano por turbiedad.

Análisis sensorial. Se realizó bajo una sencilla metodología, la cual se aplicó a 40 panelistas, consistió en enjuagar la boca por 20 segundos, a fin de eliminar sabores que se llegasen a traer, posteriormente se bebe el pulque para determinar los atributos de visuales, gustativas y olfativas. Las propiedades sensoriales del pulque se analizaron de acuerdo a lo descrito en la Norma Mexicana NMX-V-1972 (Pulque manejado a granel) (SECOPFI, 1972b).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pulque es una bebida considerada como símbolo e identidad mexicana, sus beneficios han sido documentados en al menos 8 códigos, desde épocas prehispánicas (Goncalves de Lima, 1956). Presenta color blanco y viscoso, con sabor y olor fuerte a maguey, su grado alcohólico no rebasa 7.5 % (v/v) (Guzmán y Contreras, 2018, NOM-199-SCFI-2017). En los últimos años se ha tenido un mayor interés por esta bebida, al promoverlo en exposiciones culturales, ganando mayor consumo entre los jóvenes (Trejo *et al.*, 2020), esto se ha fortalecido con estudios recientes que resaltan su valor nutritivo, con altos niveles de carbohidratos, sales minerales, vitaminas y minerales, además de contener microorganismos pre y probióticos que ayudan a mejorar la microbiota intestinal (Correa, 2014; Escalante *et al.*, 2008). Los otomíes son considerados los primeros en elaborar la bebida del pulque, es por ello importante rescatar los saberes entorno al proceso de elaboración de esta bebida de manera tradicional y con las recetas ancestrales (transmitidas de generación en generación), a fin de promover su consumo, resaltando las características y propiedades de un producto natural y de calidad. El proceso de elaboración del pulque se documentó mediante la información proporcionada por los productores y se estandarizó para el Alto Mezquital, como se describe a continuación.

Proceso de elaboración tradicional del pulque

La producción de pulque de la región de estudio, se basa en productores que cuentan con plantaciones no mayor a media hectárea, en donde un 60 por ciento utiliza la planta como bordos, un 20 por ciento tiene sus terrenos con plantaciones cubiertas de maguey y el resto compra magueyes maduros para recolectar el aguamiel.

Capado. Se seleccionan plantas maduras (con una edad aproximada 8 a 10 años), se le corta y eliminan el conjunto de pencas más tiernas del centro de la planta, pedúnculo floral embrionario que está rodeado del capullo floral (quiote). Las hojas centrales de la planta (meloyote) son eliminados con la ayuda de un quebrador.

Picado. Debe hacerse de una a dos semanas antes de que vaya a iniciarse el raspado y la extracción del aguamiel, se abre una cavidad (cajete) en el corazón de la planta, el cual consiste en hacer un agujero o hueco en el cuerpo de la planta o mezontete, misma que servirá como cuenco por el que fluye el aguamiel, esto se realiza con la ayuda de una barreta.

Reposo. Una vez que el maguey es capado, inicia la etapa de reposo la cual dura de 1 semana a 6 meses.

Extracción. Utilizando un acocote (guaje con dos agujeros) el tlachiquero (persona que extrae el aguamiel del maguey) lo introduce en el mezontete para extraerle el aguamiel mediante succión con la boca. Una vez que extrae todo el aguamiel la cavidad es tapada con una roca o trozo de penca del maguey para evitar la contaminación con factores externos y protegerlo del ambiente.

Raspado. Posteriormente de extraer el aguamiel, se debe raspar con un raspador la superficie de donde nace el meloyote a fin de ir formando el mezontete y favorecer la inducción de la savia, la extracción y el raspado se realizan 2 veces por día. La producción de aguamiel

se da de 3 a 6 meses dependiendo de la edad y tamaño la planta, y frecuencia del proceso de raspado, la cantidad de aguamiel que se obtiene por día también varía de acuerdo a los factores antes mencionados, pero se tiene un aproximado de 3 a 5 litros por día con una producción en el tiempo de vida de 60 a 90 litros. El raspado comprende de 1 a 4 semanas, la etapa media de raspado va de 1 a 4 meses y el final del raspado de 4 a 6 meses, para posteriormente abandonar el maguey, todas estas etapas están en función del tiempo que se le da al raspado.

Transporte al tinacal. Un tinacal es el lugar donde se lleva a cabo el proceso de fermentación del pulque, puede ser un cuarto cerrado de 3 × 3 m o mucho más amplio, pero que mantenga condiciones de temperatura ambiente para mejor la conservación de la bebida. Semilla. Su elaboración consiste en que el aguamiel se deja fermentar por al menos 4 días, para producir el inóculo en donde se ha dado el proceso de fermentación. Este proceso se da de forma espontánea en un cuarto a temperatura ambiente.

Siembra. Consiste en adicionar el pulque fuerte (semilla), al nuevo aguamiel que se extrae para acelerar el proceso de fermentación.

Fermentación (maduración). Una vez mezclados la semilla y el aguamiel, el proceso de fermentación tarda aproximadamente entre 24 y 48 horas, proceso que se realizaba en cueros de reses, actualmente se lleva a cabo en recipientes de plástico y en cuartos cerrados al cual en lo posterior se adiciona el aguamiel que se colecta. El grado de fermentación está en función del gusto del productor, y se considera adecuado cuando se tiene el grado de alcohol característico (4-6%) y viscosidad.

Transporte a punto de venta. Una forma tradicional de transporte es en odres (elaborados con cuero de chivo), el cual conserva la temperatura adecuada del pulque para mantener su calidad.

Consumo. Su consumo no requiere la adición de ningún ingrediente y se realiza en los tinacales o en lugares específicos para su venta, se utiliza de forma tradicional una jícara para tomar el pulque.

El líquido que se extrae de maguey se denomina aguamiel; su cantidad y calidad son variables, dependiendo del nivel de humedad y las condiciones edafoclimáticas, época del año, edad de la planta, especie o variedad de la planta. Es importante que el proceso no se adicionen elementos que alteren su calidad o sabor. De acuerdo a diferentes autores (Escalante *et al.*, 2012; Escalante *et al.*, 2016; Lappe *et al.*, 2008), indican que las variantes con respecto al proceso de elaboración del pulque en diferentes estados de México son mínimas, sin embargo, es importante documentar estos procesos a fin de preservar las formas tradicionales de la elaboración del pulque.

Proceso de fermentación. El proceso de fermentación es un punto clave en la elaboración del pulque del cual se identificaron variaciones entre los productores, debido a la receta que le fue heredada o por modificaciones que él mismo ha realizado para mejorar su producto. En el Cuadro 1, se muestran las 3 variantes identificadas en el proceso de fermentación entre los productores de la región del Alto Mezquital.

El tiempo que se le da para elaborar la semilla es un factor de suma importancia para obtener el pulque, debido a que es la que se utiliza para obtener el producto final. Durante el

Cuadro 1. Variantes en la fermentación del pulque.

Días	Caso 1	Caso 2	Caso 3
Día 1	Se deja reposar el aguamiel para su fermentación natural.	Al aguamiel se le agrega la semilla y se deja fermentar.	Al pulque 1 (punta) se le agrega aguamiel.
Día 2	Se le agrega más aguamiel para continuar la fermentación.	Se agrega más aguamiel al pulque anterior.	Al pulque 1 se le agrega el pulque 2.
Día 3	Se agrega más aguamiel y se valora su condición de maduración.	El pulque restante se elimina y se vuelve a comenzar.	Al pulque 2 se le agrega el pulque 3.
Día 4	Se usa como semilla en otros pulques.	-	Al pulque 3 se le agrega el pulque 4.
Día 5	-	-	Al pulque 4 se le agrega el pulque 5.
Día 6	-	-	Al pulque 5 se le agrega el pulque 6.
Día 7	-	-	Al pulque 6 se le agrega el pulque 7 (cola)

Fuente: autores.

proceso de fermentación el aguamiel se vuelve ácido, mientras se forma el ácido láctico. El pulque, es blanco, líquido, viscoso con alrededor de 45 g/L de etanol y un pH de 3.4 (Santos *et al.*, 2016). Para la elaboración de esta bebida, tres principales fermentaciones ocurren en el proceso: una fermentación alcohólica que se lleva a cabo por *Zymomonas mobilis* y varios géneros de levaduras como *Saccharomyces cerevisiae*, una fermentación láctica y una fermentación viscosa en la cual *Leuconostoc mesenteroides* produce dextrano, que da a la bebida una textura viscosa (Escalante *et al.*, 2004). El tiempo de fermentación puede durar desde las 0 a 48 horas a una temperatura de 25 °C, cuidando que los recipientes no tengan ninguna sustancia que inhiba los microorganismos mesófilos (detergentes, perfumes, desinfectantes, entre otros). A medida que pasa el tiempo se presentan cambios importantes como un incremento en el porcentaje de etanol y formación de exopolisacáridos como β -glucanos y dextranos; que generan un incremento en la viscosidad transformando el fluido de newtoniano a no newtoniano (Escalante *et al.*, 2012). En las muestras de pulque analizadas se evaluó el estado de fermentación de acuerdo al porcentaje de alcohol presente desde las 0 a las 24 horas (Cuadro 2), lo anterior permite establecer los parámetros básicos para indicar su estado de fermentación. Otros cambios identificados en la fermentación son los grados Brix, grado alcohólico, acidez total y viscosidad. Valores que fueron identificados en la etapa inicial, 24, 48 y 72

Cuadro 2. Cambios que sufre el pulque durante la fermentación.

Tiempo	0-2 hrs.	2 a 5 hrs.	6 a 10 hrs.	10 a 24 hrs.	Después de 24 hrs.
Estado de fermentación	Sin alcohol (0-0.6 %)	Ligeramente fermentado (0.6-2 %)	Fermentación intermedia (2-3.5 %)	Muy fermentado (> de 4 %)	Brincado (avinagrado) disminuye el alcohol.

Fuente: autores.

horas (Cuadro 3), en donde los grados Brix disminuyen con respecto a un mayor tiempo de fermentación, mientras que el grado alcohólico, acidez total y viscosidad aumentan. La importancia de conocer el nivel de acidez en los alimentos por medio del pH radica en que permite determinar el tipo de microorganismos capaces de desarrollarse en ellos con actividad prebiótica debido a los carbohidratos que lo constituyen (Guzmán y Contreras, 2018). El aguamiel contiene compuestos bioactivos como saponinas, aminoácidos y ácidos grasos que le confieren la característica como alimento funcional, de igual manera el pulque permite el crecimiento de microorganismos que son aprovechadas para la elaboración de productos alimenticios (Guzmán y Contreras, 2018). Los resultados obtenidos permiten generar información que dan soporte a las propiedades nutricionales y funcionales del pulque a fin de ser considerado en la industria alimentaria y biotecnológica, además de concientizar su aprovechamiento que por muchos años ha sido un complemento en la dieta alimentaria de comunidades marginadas.

Propiedades fisicoquímicas del aguamiel y pulque. El aguamiel es la savia que se obtiene del maguey, de color blanco, ligeramente turbio, dulce tendiendo a ácido, está compuesto por agua, azúcares, proteínas, sales minerales entre los componentes principales (Escalante *et al.*, 2008). De acuerdo con la regulación mexicana NMX-V-022 (SECOFI, 1972a) se identifican dos tipos de aguamiel para la producción de pulque. Tipo I refiere al aguamiel de mejor calidad (más limpio y con mayor cantidad de azúcar), pH de 6.6-7.5 y 0.9-1.03 mg de ácido láctico/100 mL, el tipo II es un aguamiel ligeramente ácido, pH menor de 4.5 y menor de 4mg ácido láctico/100 mL. La composición y cantidad del aguamiel durante el periodo de producción varía de acuerdo a la especie de agave, manejo agronómico de la planta y condiciones agroclimáticas de la región. De acuerdo a las características del aguamiel evaluado en la región (Cuadro 4), corresponde a la calidad I, sin embargo, es importante considerar que estos valores son susceptibles de cambio, por factores como el tiempo de raspado, e influye directamente en la calidad y propiedades del aguamiel, ya que las características no son las misma al inicio, en la etapa media y al final del raspado de una planta de maguey. Análisis realizados al aguamiel de Tecamachalco, Puebla, reportan además contenidos significativos en la capacidad antioxidante de 5.01 ± 0.06 trolox (Castro y Guerrero, 2014). También, se han identificado aminoácidos esenciales para consumo humano (lisina, fenilalanina, isoleucina, leucina, valina y metionina) puede llegar a considerar al aguamiel como una fuente alternativa y económica de aminoácidos (Romero *et al.*, 2015). Con respecto al pulque, la regulación mexicana NMX-V-037 (SECOFI, 1972b) refiere 2

Cuadro 3. Cambios perceptibles del pulque durante la fermentación.

Característica	0 horas	24 horas	48 horas	72 horas
Grados Brix	11.00	6.00	4.00	3.50
Grado alcohólico	1.23	2.85	5.34	6.30
Acidez total	0.85	1.35	2.50	2.35
Viscosidad	1.26	1.30	1.34	1.51

Fuente: autores.

Cuadro 4. Propiedades fisicoquímicas del aguamiel y pulque g L⁻¹.

Parámetros	Aguamiel	Semilla	Punta	Pulque comercial
Brix (azúcar)	10	6	5.4	4.3
% de alcohol	0.1	5.8	6.3	4.5
Densidad	1.025	1.018	1.20	1.011
% de acidez total	1.60	1.12	1.05	1.25
pH	6.8	3.45	4.00	4.01
% Glucosa	6.33	4.75	4.65	3.30
% Sacarosa	6.1	4.05	3.50	2.34
%Proteínas crudas	1.18	0.95	0.85	0.33
% Cenizas	0.24	0.30	0.32	0.36

Fuente: autores.

tipos de pulque: tipo I incluye al pulque semilla y tipo II refiere al pulque comercial. El pulque semilla es preparado para incrementar la microbiota natural que permite la adecuada fermentación del pulque para su posterior venta. El aguamiel tipo I se inocula con el pulque semilla, con la finalidad de lograr el equilibrio bioquímico entre los sustratos a fermentar y los microorganismos (Ramírez *et al.*, 2004, Lappe *et al.*, 2008). En el Cuadro 4, se muestra los resultados de la composición fisicoquímica del aguamiel, semilla, punta y pulque comercial, los parámetros evaluados se ubican dentro de los estándares aceptables de un pulque de calidad. Es importante considerar que dichos parámetros pueden verse afectados durante el año, debido a la presencia o ausencia de lluvias y características propias de la planta.

La Norma Mexicana NMX-V-037, describe 2 tipos de pulque, Tipo I (semilla y punta) y Tipo II o pulque comercial, en donde se especifican propiedades fisicoquímicas del Tipo I con un pH menor a 3.5-4.0, contenido de azúcar de 0.10-0.80 g/100 mL de azúcares reducidos, expresados como equivalente en glucosa y 6-9% de contenido alcohólico (v/v). El Tipo II, con un pH final de 3.0-4.0, contenido de azúcar de 0.20-0.50 g/100 mL de azúcares reducidos y contenido alcohólico de 4.0-6.0% (v/v) (SECOFI, 1972b). De acuerdo a las especificaciones de calidad establecidas por la NMX-V-037, la semilla y punta se ubican dentro del Tipo I y el pulque comercial corresponde al Tipo II, de acuerdo a los resultados obtenidos. El contenido de cenizas es bajo comparado con otras bebidas fermentadas (Escalante *et al.*, 2016). La determinación de proteínas en las muestras entra dentro del intervalo identificado por Cervantes y Pedroza, (2007) en otras muestras de pulque. Es importante mencionar que el pequeño productor determina la calidad del pulque basado en su experiencia tradicional.

Propiedades microbiológicas. Son más de 30 microorganismos identificados en el proceso y elaboración del pulque, sin embargo, estos varían de acuerdo a la región, proceso de elaboración y especie de agave (Matías *et al.*, 2019). Los que se han identificado en mayor cantidad y frecuencia son: *Zymomonas sp.*, *Leuconostoc sp.*, *Saccharomyces sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Bacillus simplex* (Lappe *et al.*, 2008; Escalante *et al.*, 2004; 2008; Castro *et al.*, 2015a). Las evidencias científicas demuestran los efectos del consumo del pulque en donde las bacterias probióticas son importantes para el desarrollo de productos funcionales no lácteos (Matías *et al.*,

2019). Los microorganismos identificados en el proceso de elaboración del pulque de la región de estudio fueron: Lactobacilos y Leuconostoc; particularmente durante el proceso de fermentación se identificó a *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces*, *Zymomonas mobilis*, *acetobacteria*, *gluconobacter*, en las muestras analizadas. Varios de los microorganismos de las especies Leuconostoc y Lactobacillus, presentes en el aguamiel y el pulque, presentan resistencia a las barreras antimicrobianas del tracto gastrointestinal, además de adherencia a la mucosa intestinal (Escalante *et al.*, 2016; Castro *et al.*, 2015b). Por lo tanto, los tratamientos tradicionales de infecciones y desórdenes gastrointestinales se relacionan con la actividad antimicrobiana de las bacterias ácido lácticas presentes en su fermentación y el consumo moderado del pulque.

El pulque es una bebida con grandes aportes nutrimentales, se considera una bebida que está resurgiendo y que representan una opción de alimentación adecuada y saludable por sus propiedades pre y probióticas, a las cuales se les considera como bebidas con organismos y sustancias que contribuyen al balance microbiano intestinal, su consumo diario es considerado como una fuente de energía, vitaminas, contenido de aminoácidos como lisina y triptófano, los cuales se encuentran escasos en la dieta del mexicano, el pulque es una fuente importante de vitamina C, tiamina, riboflavina, calcio y hierro (Matías *et al.*, 2019, Peralta *et al.*, 2020). Es por ello, que el pulque representa una buena opción en este sentido. El néctar del agave o aguamiel, es rico por sí mismo en vitaminas y minerales, y, sin llegar a la fermentación, puede ser una fuente de alimentación para la población infantil (Escalante *et al.*, 2012). Además, si es adicionado como un alimento probiótico, aumenta su valor nutrimental y funcional para contribuir a la dieta diaria mejorando las condiciones de salud de las personas, debido a que se han identificados vitaminas y minerales en *A. atroviren* como la vitamina C, en mayor concentración se encuentra (17.99 mg/ 100 g), seguida de la vitamina B3 en cantidades de 4.77 mg/100 g y en menor medida la vitamina B6, vitamina B2 y vitamina B1 (Romero *et al.*, 2015). Atributos organolépticos del pulque. De acuerdo con la Norma Mexicana NMX-V-037-1972, las especificaciones organolépticas del pulque se basan en el color el cual debe ser blanco, el sabor y olor son suigéneris y no deben presentar sabor y olor diferentes en impropios. Los atributos organolépticos del pulque fueron identificados como: visuales (color, limpieza y espuma), olfativas (persistencia y calidad en el aroma) y gustativas (calidad y pruebas al paladar), los cuales se analizaron como indicador de buena calidad y defectos de calidad (Cuadro 5).

Dentro de los atributos visuales, el color blanco es la característica ideal e identificado como sinónimo de calidad en pulque. En la limpieza, debe ser sin impurezas y claro como la característica ideal, la espuma perceptible fue identificado como el ideal. La sensación olfativa, en donde su presencia debe ser breve y no prolongada, los aromas primarios (maguey tierno y afrutado) son los de mejor preferencia, para el parámetro gustativo, el ideal es agrídulce y dulce, y las pruebas al paladar, el sabor dulce fue el preferido.

Como se mencionó anteriormente, la calidad del pulque, se puede ver afectada por factores internos y externo, los cuales se describen en los Cuadros 6 y 7, fue importante documentarlo, ya que estos influyen de manera importante en el proceso de extracción del aguamiel y en la elaboración del producto final (pulque).

Cuadro 5. Indicadores organolépticos en la evaluación.

Característica	Indicadores de buena calidad	Indicadores de defectos
Color y aspecto	Blanco espumoso y sin impurezas.	Amarillento, aguanoso, grasoso, estiloso (viscoso), presencia de impurezas.
Olor	Afrutado, almendrado a maguey maduro (capón).	Avinagrado o rezagado (Agrio), brincado (pútrido), presencia de olores no característicos del pulque.
Sabor	Afrutado (melón: poco fermentado; papaya: bien fermentado), agridulce, se percibe sabor de maguey de origen, alcohólico.	Guixi (astringente a penca tierna), ñanmfí (pencavieja), Agrio, amargo, pútrido, apestoso, rezagado, aguanoso.
Resabio	Dulce, sensación a frutas, con ausencia de sabores fuertes y persistentes.	Viscoso, rasposo, rancio, putrefacto persistente.

Fuente: autores.

Cada uno de los factores considerados en el Cuadro 6 influyen en la calidad del pulque. Particularmente, el grado de fermentación está en función de la cantidad de microorganismos encargados del proceso, aunado a que las condiciones climáticas sean las favorables para su proliferación. El tiempo de raspado va a depender de la edad de la planta y características morfológicas de la misma, así como el origen y forma de propagación ya que el desarrollo es diferente de acuerdo al tipo de propagación. Las condiciones agroclimáticas en que se realiza la extracción del aguamiel y elaboración del pulque es un factor clave, debido a que la lluvia, el calor, el frío y sequía, dan lugar a características y apreciaciones gustativas diferentes en el pulque, como describe en el Cuadro 7, dando origen a las diferentes calidades de la bebida.

De igual manera, los utensilios empleados para la extracción y elaboración del pulque, las personas que manipulan el aguamiel y pulque, los recipientes de servicio, la higiene que se debe tener en la extracción y en la elaboración del pulque, el proceso para la elaboración de la bebida, son factores a considerar y que afectan la calidad del pulque, debido a que cada municipio o región en particular existen variantes desde la forma de elaborar la semilla hasta los tiempos que se le da a la fermentación para su posterior venta del producto final.

Cuadro 6. Factores que influyen en la calidad organoléptica del pulque.

Factor	Causa
Externos	<ul style="list-style-type: none"> • Grado de fermentación • Tiempo de raspado • Clima y estación del año • Origen de la planta
Internos	<ul style="list-style-type: none"> • Higiene en el proceso • Técnica de preparación • Condiciones ambientales en el tinacal

Fuente: autores.

Cuadro 7. Clima y estación del año.

Clima	Características	Apreciación gustativa
Lluvia	Aguanoso e insípido	Mala calidad
Calor	Viscoso, fuerte grado alcohólico y pútrido	Calidad intermedia
Frio	Buen equilibrio	Buena calidad
Sequia	Alto grado alcohólico buen sabor	Buena calidad

Fuente: autores.

CONCLUSIONES

La región del Alto Mezquital, se caracteriza por la elaboración y venta de pulque, debido a que es una zona productora de maguey xamini, estas actividades continúan aportando ingresos económicos a los productores. En donde, la extracción de aguamiel y elaboración del pulque, son procesos realizados de forma tradicional, los cuales han sido heredados por generaciones. Durante el proceso de elaboración del pulque de esta región, el aguamiel, la semilla, la punta y el pulque comercial se encuentran dentro de los estándares de calidad de acuerdo a las normas mexicanas, esto debido a sus características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas analizadas. Por otro lado, las bacterias y levaduras identificadas en el pulque, le confiere propiedades pre y probióticas con un alto potencial alimenticio. Por lo cual existe la necesidad de revalorizar al aguamiel y pulque, además de concientizar su aprovechamiento para el aislamiento de microorganismos y producción de metabolitos de interés en la industria alimenticia, y en general promover la gran cantidad de beneficios que tiene como bebidas tradicionales y con alto valor nutricional.

REFERENCIAS

- Anderson RK, Calvo J, Serrano G, Payne GC. 1946. A study of the nutritional status and food habits of Otomi indians in the Mezquital Valley of Mexico. *American Journal Public Health Nations Health*, 36, 883–903. doi: 10.2105/AJPH.36.8.883
- Castro RD, Hernández SH, Yáñez FJ. 2015a. Probiotic properties of *Leuconostoc mesenteroides* isolated from aguamiel of *Agave salmiana*. *Probiotics Antimicrob Proteins*, 7, 107–117. doi: 10.1007/s12602-015-9187-5
- Castro ZA, Juárez FBI, Pinos RJM, Delgado PRE, Aguirre RJR, Alcocer GF. 2015b. Prebiotic effects of *Agave salmiana* fructans in *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* cultures. *Natural Product Communications*, 10, 1985–1988.
- Chacón VK, Torres J, Giles GM, Escalante A, Gibbons JG. 2020. Genomic proiling of bacterial and fungal communities and their predictive functionality during pulque fermentation by whole-genome shotgun sequencing. *Nature*, 10(15115).
- Correa AM, Robertson IG, Cabrera CO, Cabrera CR, Evershed RP. 2014. Pulque production from fermented agave sap as a dietary supplement in Prehispanic Mesoamerica. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111, 14223–14228. doi: 10.1073/pnas.1408339111
- Escalante A, Giles GM, Esquivel G, Matus AV, Moreno TR, López MA, Lappe OP. 2012. Pulque fermentation. In: Y. H. Hui & E. Özgül-Evranoz (eds), *Handbook of plant-based fermented food and beverage technology* (691-706). Boca Ratón, FL, EUA. CRC Press Inc.
- Escalante A, Giles GM, Hernández G, Córdova AM, López MA, Gosset G. 2008. Analysis of bacterial community during the fermentation of pulque, a traditional Mexican alcoholic beverage, using a polyphasic approach. *International Journal of Food Microbiology*, 124, 126–134. doi: 10.1016/j.ijfoodmi

- cro.2008.03.003
- Escalante A, López SDR, Velázquez GJE, Giles GM, Bolívar F, López MA. 2016. Pulque, a traditional Mexican alcoholic fermented beverage: historical, microbiological and technical aspects. *Frontiers in Microbiology*, 7. doi: 10.3389/fmicb.2016.01026
- Escalante A, Rodríguez ME, Martínez A, López MA, Bolívar F, Gosset G. 2004. Characterization of bacterial diversity in pulque, a traditional Mexican alcoholic fermented beverage, as determined by 16S rDNA analysis. *FEMS Microbiology Letters*, 235(2):273-279. doi: 10.1111/j.1574-6968.2004.tb09599.x
- Goncalves de Lima O. 1956. *El Maguey y el pulque: en los códigos mexicanos*. México: Fondo de Cultura Económica, 2ª ed.
- Guzmán PR, Contreras EJC. 2018. Aguamiel and its fermentation: Science beyond tradition. *Mexican Journal of Biotechnology*, 3(1):1-22. doi:10.29267/mxjb.2018.3.1.1
- Lappe OP, Moreno TR, Arrizón GJ, Herrera ST, García MA, Gschaedler MA. 2008. Yeasts associated with the production of Mexican alcoholic nondistilled and distilled Agave beverages. *FEMS Yeast Research*, 8, 1037-1052. doi: 10.1111/j.1567-1364.2008.00430.x
- Matías LG, Peña CV, Reyna GW, Dominguez DLR, Martínez HJJ. 2019. Valor nutricional y medicinal del pulque. *Journal of Negative and No Positive Results*, 4(12)1291-1303. doi: 10.19230/jonnpr.3148
- Morales de León J, Bourges H, Camacho ME. 2005. Aminoacid composition of some Mexican foods. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 55, 172-186.
- Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994. 1994. Bienes y servicios. *Diario Oficial de la Federación*, 4 de noviembre de 1994. Extraído de https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4881801&fecha=21/09/1995
- Norma Oficial Mexicana NOM-199-SCFI-2017. 2017. Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. *Diario Oficial de la Federación*. Extraído de https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5571249 4 de septiembre de 2019.
- Peralta GI, González MF, Elena RAM, Sánchez Flores A, López MA. 2020. Evolution of fructans in aguamiel (Agave sap) during the plant production lifetime. *Frontiers in Nutrition*, 7:566950. doi: 10.3389/fnut.2020.566950
- Ramírez JF, Sánchez MA, Álvarez MM, Valyasebi R. 2004. Industrialization of Mexican pulque. *In: Steinkraus K, editor. Industrialization of Indigenous Fermented Foods*. 2nd ed. New York: MarcelDekker. pp: 548-75.
- Romero LMR, Osorio DP, Flores MA, Robledo N, Mora ER. 2015. Chemical composition, antioxidant capacity and prebiotic effect of aguamiel (Agave atrovirens) during *in vitro* fermentation. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 14(2): 281-292.
- Santos ZL, Leal DAM, Jacobo VDA, Rodríguez RJ, García LS, Gutiérrez UJA. 2016. Characterization of concentrated agave saps and storage effects on browning, antioxidant capacity and amino acid content. *Journal of Food Composition and Analysis*, 45, 113-120. doi.org/10.1016/j.jfca.2015.10.005
- SECOFI. 1972a. NMX-V-022-1972. Hidromiel. *Normas Mexicanas, Dirección General de Normas*. *Diario Oficial* septiembre 26, México.
- SECOFI. 1972b. NMX-V-037-1972. Pulque manejado a granel. *Norma Oficial Mexicana Dirección General de Normas*. *Diario Oficial* septiembre 26, México.
- Ortiz BRI, Pourcelly G, Doco T, Williams P, Dornier M, Belleville MP. 2008. Analysis of the main components of the aguamiel produced by the maguey-pulquero (*Agave mapisaga*) throughout the harvest period. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 3682-3687. doi: 10.1021/jf072767h
- Tovar LR, Olivos M, Gutierrez ME. 2008. Pulque, an alcoholic drink from rural Mexico, contains phytase. Its *in vitro* effects on corn tortilla. *Plant Foods for Human Nutrition*, 63, 189-194. doi: 10.1007/s11130-008-0089-5.
- Trejo L, Reyes M, Cortés TD, Romano GE, Muñoz CLL. 2020. Morphological diversity and genetic relationships in pulque production Agaves en Tlaxcala, Mexico, by means of unsupervised learning and gene sequencing analysis. *Frontiers in plant science*, 11: 524812. doi: 10.3389/fpls.2020.524812.
- Valadez BR, Bravo VG, Santos SNF, Velasco ASI, Montville TJ. 2012. The artisanal production of pulque, a traditional beverage of the Mexican Highlands. *Probiotics Antimicrobial Proteins*, 4, 140-144. doi: 10.1007/s12602-012-9096-9.
- Velázquez MJ, González CR, Hernández GM, Mendiola R, Aparicio A, Ocampo M. 2014. Prebiotic potential of *Agave angustifolia* Haw fructans with different degrees of polymerization. *Molecules*, 19, 12660-12675. doi: 10.3390/molecules190812660.
- Witham FH, Blaydes DF, Devlin RM. 1971. *Experiments in plant physiology*. New York: Van Nostrand

Reinhold Company. 245.
Wolfe BE, Dutton RJ. 2015. Fermented foods as experimentally tractable microbial ecosystems. *Cell*, 161(1), 49–55. doi: 10.1016/j.cell.2015.02.034.