

Microbiomas y su importancia en el contexto de la producción de alimentos

Microbiomes and their importance in the context of food production

José Martín Ruvalcaba-Gómez  ^{1*}

Noé Rodríguez-Barajas  ²

Luis Miguel Anaya-Esparza  ³

Zuamí Villagrán  ⁴

Lorena Jacqueline Gómez-Godínez  ⁵

Ramón Ignacio Arteaga-Garibay  ⁶

DOI: <https://doi.org/10.26495/xg6cht49>

Resumen

El avance en el desarrollo de plataformas de secuenciación ha hecho posible la generación y análisis de grandes cantidades de información en tiempos reducidos, lo que ha mejorado de manera sustancial el poder de resolución de dichas estrategias. El objetivo de la presente revisión, fue recopilar información de artículos científicos relacionada con el desarrollo de las ciencias ómicas y su aplicación al estudio de microbiomas relacionados con la producción de alimentos, así como el papel de los microbiomas en el desarrollo de la industria alimentaria. Para ello, se realizó un estudio bibliográfico descriptivo basado en la búsqueda y revisión de artículos en tres de las principales bases de datos disponibles. Los resultados muestran que las diversas disciplinas que forman parte de las ciencias ómicas, aplicadas al estudio de microbiomas asociados a la producción de alimentos, ha permitido tener un mayor conocimiento sobre la composición, estructura, sucesión y función de las comunidades microbianas involucradas en la producción de alimentos, sobre todo de aquellos que dependen de procesos de fermentación espontánea, la cual se caracteriza por involucrar comunidades microbianas complejas. Además, ha servido para explorar el potencial probiótico de los integrantes del microbioma, lo que facilita su selección para ser incluidos en el desarrollo de alimentos funcionales, al tiempo que facilitan estudiar la eficacia y efectos de su inclusión en la producción de alimentos tradicionales. En conclusión, la información revisada demuestra que la integración de diversas disciplinas de las ciencias -ómicas ha permitido una mejor comprensión del microbioma y del potencial biotecnológico del mismo, además de que ha sido un aprovechamiento útil para evaluar los efectos y efectividad de la inclusión de microorganismos con potencial probiótico, fundamental en el desarrollo de alimentos funcionales.

Palabras clave:

Proteínas, industria alimentaria, genómicas, DNA, RNA.

¹ Centro Nacional de Recursos Genéticos, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México, ruvalcaba.josemartin@inifap.gob.mx

^{2,3,4,5,6} Centro Universitario de los Altos, Universidad de Guadalajara, Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México, noe.rbarajas@academicos.udg.mx, luis.aesparza@academicos.udg.mx; blanca.villagran@academicos.udg.mx gomez.lorena@inifap.gob.mx; arteaga.ramon@inifap.gob.mx

Abstract

The advanced development of sequencing platforms has made it possible to generate and analyze large amounts of information in reduced times, substantially improving the resolution power of these strategies. The objective of the present review was to compile information from scientific articles related to the development of omics sciences and its application to the study of microbiomes related to food production, as well as the role of microbiomes in the development of the food industry. To this end, a descriptive bibliographic study was carried out based on searching and reviewing articles in three of the main available databases. The results show that the various disciplines that are part of the omics sciences, applied to the study of microbiomes associated with food production, have allowed us to have greater knowledge about the composition, structure, succession and function of the microbial communities involved in the production of foods, especially those that depend on spontaneous fermentation processes, which are characterized by involving complex microbial communities. In addition, it has explored the probiotic potential of the microbiome members, which facilitates their selection to be included in the development of functional foods while facilitating the study of the effectiveness and effects of their inclusion in the production of traditional foods. In conclusion, the information reviewed demonstrates that the integration of various disciplines of the -omics sciences has allowed a better understanding of the microbiome and its biotechnological potential, in addition to being useful use to evaluate the effects and effectiveness of the inclusion of microorganisms with probiotic potential, essential in the development of functional foods.

Keywords:

Proteins, genomics, food industry, DNA, RNA.

1. INTRODUCCIÓN

El uso del material genético para el estudio de comunidades complejas de microorganismos en alimentos ha sido determinante para la lograr una mayor comprensión no solo de los organismos que integran dichas comunidades, sino también de los procesos y reacciones involucradas durante la producción del alimento, lo que puede ser aprovechado, desde el punto de vista tecnológico para mejorar las características de los productos, proteger su integridad, aumentar su valor agregado y nutricional, e incluso para el diseño de alimentos funcionales mediante el uso de componentes nutraceuticos. La base para el estudio de los alimentos a partir de su material genético ha sido el desarrollo de las ciencias -ómicas, basadas en las diferentes tecnologías de secuenciación disponibles, lo cual ha permitido estudiar la composición, estructura y función de los microbiomas asociados a diferentes nichos ecológicos, seres vivos, y procesos, incluida una gran diversidad de alimentos. Esto ha permitido la revalorización de alimentos, desarrollo de productos alimenticios funcionales, elucidar los efectos de la ingesta de microorganismos, entre otros. No obstante, debido a la gran cantidad de información que el estudio de microbiomas ofrece, es importante conocer cuales son las principales estrategias de estudio que pueden ser aplicadas a los alimentos para poder hacer un uso más eficiente de dicha información, con el objetivo de contribuir al avance en el desarrollo de la industria alimentaria. El objetivo de la presente revisión fue recopilar y sintetizar la información más relevante sobre el avance en las ciencias ómicas y su aprovechamiento en el estudio de microbiomas como elemento fundamental para el estudio, mejora y desarrollo de alimentos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio correspondió a un estudio bibliográfico de tipo descriptivo (Reyes, 2020) que tuvo como objetivo recopilar, analizar y sintetizar información publicada en revistas científicas para brindar una síntesis de la aplicación de diversas estrategias para el estudio de microbiomas en el contexto de la industria alimentaria.

El documento se estructuró con base en las etapas sugeridas por Cué et al. (2008). Para ello, se realizó una búsqueda en tres de las principales bases de datos de documentos científicos (ScienceDirect, Scopus y Google académico), mediante el uso de palabras clave: ciencias ómicas, metagenómica, transcriptómica, proteómica, metabolómica, secuenciación masiva, alimentos funcionales, alimentos fermentados (búsqueda en inglés y español). A partir de los resultados, se seleccionaron los artículos más recientes (publicados durante los últimos cinco años) o aquellos que su aporte contribuya a la conceptualización del tema. Los artículos se agruparon por similitud en cuanto al tema y abordaje de estudio y de cada grupo se seleccionaron los más representativos para ser incluidos en el estudio. La información de cada artículo se sintetizó y utilizó para la redacción de este documento.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Origen de las tecnologías de secuenciación

En conjunto, las tecnologías de secuenciación se basan en leer el código genético o secuencia de nucleótidos que conforma a algún (o algunos) fragmento del material genético (DNA o RNA) bajo algún principio bioquímico, para después descifrar dicho código y hacer inferencias mediante análisis bioinformático a través de la interpretación de la información, en función del objetivo y alcance del estudio. Las principales técnicas de secuenciación incluyen la secuenciación de genomas completos, metagenómica y transcriptómica (Rojas-Villalta *et al.*, 2024).

La primera tecnología de secuenciación, utilizada de manera extensiva por la facilidad y precisión que brinda y que además se reconoce como secuenciación de primera generación, es la secuenciación tipo Sanger, que data del año 1977 y se basa en el uso de dideoxinucleótidos trifosfato (ddNTPs), nucleótidos que presentan la ausencia de dos grupos hidroxilo (-OH), de modo que al tener contacto con la DNA polimerasa utilizada durante la reacción, determinan el final de la secuencia, por no poder enlazar otros nucleótidos (dNTP) al ddNTP (Sanger *et al.*, 1977). Mediante la secuenciación Sanger, o secuenciación de dideoxinucleótidos, se lleva a cabo la síntesis de la cadena complementaria de DNA de una cadena molde (secuencia de interés), mediante el uso de cebadores o iniciadores y la incorporación de los dNTPs, proceso por el cual se generan numerosas copias de la secuencia molde en cuatro reacciones independientes, diferenciadas por el ddNTP que se incluye en la reacción que, al incorporarse durante el proceso de síntesis, resulta en la terminación de la secuencia molde, de modo que la secuenciación inicia en la posición 3' del iniciador y termina con la incorporación del ddNTP. Posteriormente, los productos se resuelven mediante electroforesis en gel de poliacrilamida que considera cuatro carriles, uno para cada reacción, con un nivel de resolución de un nucleótido; es decir, el patrón de bandeo estará asociado al ddNTP que contiene la reacción para cada fragmento terminado. Finalmente, a partir del patrón de bandeo, es posible interpretar la secuencia primaria del DNA utilizado como templado (Shendure *et al.*, 2011). La secuenciación tipo Sanger sigue vigente, y se ha mejorado mediante la incorporación de ddNTPs marcados con colorantes fluorescentes diferenciados por su espectro de emisión, el uso de enzimas polimerasas mejoradas mediante ingeniería genética para aumentar su termotolerancia o la eficiencia para la incorporación de ddNTPs. El uso de diversos instrumentos automatizados para llevar a cabo la electroforesis mediante el uso de capilares y

herramientas informáticas basadas en el uso de algoritmos, hacen posible analizar hasta 384 secuencias de manera simultánea (Shendure et al., 2011; Tabor and Richardson, 1995; Ewing and Green, 1998).

3.2 Tecnologías de secuenciación masiva

Posterior a la secuenciación Sanger, fue necesario desarrollar estrategias y plataformas de secuenciación que permitan generar mayor cantidad de información en tiempos más reducidos y de manera costeable. Esto dio paso al desarrollo y optimización de plataformas de secuenciación de segunda y tercera generación que, en los últimos años, han revolucionado el campo de la genómica y brinda diversas alternativas que ofrecen mayor rapidez, fidelidad y aplicabilidad durante la secuenciación. Dichas plataformas permiten ejecutar una multitud de reacciones independientes de manera simultánea (secuenciación en paralelo), que permite aumentar el rendimiento en cuanto a la generación de información en el menor tiempo posible (Lavezzo *et al.*, 2016).

La secuenciación masiva, o en paralelo, tuvo sus inicios con la plataforma basada en pirosecuenciación, o método de secuenciación por síntesis, utilizado por la plataforma 454 FLX (Droege y Hill 2008), que posteriormente fue sustituida por las plataformas “Genome analyzer” de Illumina, la cual utiliza el mismo principio de secuenciación por síntesis, pero con el uso de nucleótidos marcados por fluorescencia y terminadores reversibles que permiten realizar extensiones de base única, y la plataforma SOLiD, de Applied BioSystems, que lleva a cabo la secuenciación mediante ligación (Dohm *et al.*, 2008, Guo *et al.*, 2008, Reuter *et al.*, 2015).

Posteriormente, con un principio similar a la plataforma 454 FLX, se desarrolló la plataforma de secuenciación de Ion Torrent, que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de emulsión y la detección de los nucleótidos incorporados se logra mediante el registro de los cambios de pH, en lugar de la emisión de luz, lo que evita la compleja cascada de enzimas y no requiere de un detector óptico, como ocurre durante la pirosecuenciación (Lavezzo *et al.*, 2016). Esta tecnología sirvió para el desarrollo de los equipos de secuenciación “Ion Proton” y el Personal Genome Machine (PGM), las cuales ofrecían 10 Gb y 1 Gb de información, así como secuencias de 200 y 400 pb de longitud, respectivamente. Una de las ventajas de este sistema de secuenciación es el consumo de tiempos cortos (de 2 a 8 h), que pueden variar en función del equipo y chip de secuenciación utilizado (Mellmann *et al.*, 2011, Reuter *et al.*, 2015). Este sistema particularmente presenta, como errores más comunes, la inserción (adición de nucleótidos) y la delección (eliminación de nucleótidos), que deberán ser considerados en función del objetivo que se busca lograr con la secuenciación (Liu *et al.*, 2012, Reuter *et al.*, 2015). Más recientemente, esta tecnología se utilizó para el desarrollo el sistema Ion GeneStudio S5 Studio®, con tiempos de secuenciación de entre 6.5 y 19 horas, que mejoró significativamente la cantidad de información que se puede generar, la cual puede llegar a ser de hasta 50 GB, lo que se traduce entre 100 y 130 millones de lecturas con longitud promedio de 200 pb. Este último sistema, ofrece diferentes opciones en cuanto a capacidad en sus chips para secuenciación, lo que permite optimizar los recursos que se invierten durante la secuenciación y ofrece ventajas sobre sus antecesores, como el Ion PGM (Marine et al., 2020).

Independientemente del principio que utilizan para llevar a cabo la secuenciación, las plataformas de segunda y tercera generación han sido base para el estudio de comunidades microbianas complejas, mediante la secuenciación de marcadores moleculares universales como son el 16S, el 18S y espaciadores transcritos internos (ITS) (Fricker *et al.*, 2019). Una de las características que deben cumplir, o que son necesarias para la elección de marcadores moleculares para el estudio de microbiomas, es que deberán incluir regiones altamente conservadas dentro de la constitución genética de los organismos a estudiar, para lograr una adecuada asignación taxonómica. Uno de los marcadores más ampliamente utilizados para el estudio de microbiomas es el gen 16S ribosomal de bacterias, para

los que se han diseñado numerosas combinaciones de cebadores, o iniciadores, para amplificar alguna(s) de las regiones hipervariables que constituyen al gen y que generen fragmentos de tamaños adecuados para cada una de las plataformas de secuenciación disponibles (D'Amore *et al.*, 2016).

Una vez seleccionado el marcador molecular a utilizar para el estudio del microbioma, el proceso de secuenciación incluye dos etapas, independientemente de la plataforma de secuenciación que se utilice. La primera etapa consiste en la amplificación para generar o construir las bibliotecas genómicas y su secuenciación; mientras que, la segunda etapa, corresponde al procesamiento *in silico*, que comprende el análisis bioinformático de las lecturas generadas mediante la secuenciación (López-de Heredia, 2016). No obstante, conocer las ventajas y desventajas que ofrece cada una de las plataformas de secuenciación es importante, principalmente para establecer la manera en que los datos serán procesados para su interpretación. En este contexto, se han realizado estudios para evaluar la factibilidad de las diferentes plataformas de secuenciación en combinación con diferentes protocolos bioinformáticos para el estudio de microbiotas complejas. Por ejemplo, un estudio basado en la secuenciación de amplicones del gen 16S rDNA en las plataformas Illumina MiSeq, Ion Torrent PGM y 454 GS FLX de Roche, así como diferentes protocolos bioinformáticos, mostró diferencias respecto al número de lecturas obtenidas en función de la plataforma; con rendimientos de 118,000 y 113,006 lecturas sin filtrar y filtradas, respectivamente, para la plataforma 454 GS FLX y 4'149,441 y 3'811,042, respectivamente, mediante el uso de la plataforma Illumina, en comparación con las obtenidas mediante la plataforma PGM de Ion Torrent (481,593 y 71,652 antes y después del filtrado). Las longitudes promedio reportadas para las lecturas obtenidas fueron de 377, 334 y 297 pb para 454 GS FLX, Illumina y Ion Torrent respectivamente, aunque los autores reportan pérdidas en la calidad de las secuencias cuando se utilizaron las plataformas 454 GS FLX e Illumina, mientras que, la calidad en las secuencias obtenidas mediante Ion Torrent se mantuvo estable. Finalmente, los autores señalan que los perfiles composicionales del microbioma estudiado fueron similares entre plataformas, y más bien, la abundancia relativa calculada para cada nivel taxonómico mostró variaciones en función no solo de la plataforma empleada, sino por el protocolo para la preparación de las librerías y la estrategia de análisis bioinformático (Allali *et al.*, 2017).

3.3 Las ciencias ómicas para el estudio de microbiomas de alimentos fermentados.

Las ciencias ómicas son el conjunto de disciplinas orientadas al estudio de procesos biológicos que tienen lugar en los sistemas biológicos (Ramírez-Navas *et al.*, 2023). Esto ha permitido conocer con mayor profundidad la composición y el papel que juegan los microorganismos involucrados en la producción de alimentos, además de una conceptualización holística de las biomoléculas responsables e la estructura, función y dinámica de las comunidades de microorganismos co-habitan en determinados nichos ecológicos. Las disciplinas incluidas dentro de las ciencias ómicas incluyen a la metagenómica, metatranscriptómica, metaproteómica y metabolómica, las cuales se basan en el estudio de DNA, RNA, proteínas y metabolitos, respectivamente, producidos por la comunidad microbiana en conjunto (Tilocca *et al.*, 2019).

La metagenómica parte del uso de DNA metagenómico, o DNA total, obtenido a partir de una muestra de interés y la posterior amplificación de algún fragmento que brinde información suficiente para la asignación taxonómica de los integrantes de la comunidad microbiana en estudio. Por ejemplo, como ya se hizo mención, uno de los marcadores moleculares más utilizados para el estudio de comunidades bacterianas es la subunidad 16S del ARN ribosomal, un marcador molecular considerado como universal, ya que se encuentra presente en todas las bacterias y, debido a que contiene regiones tanto altamente conservadas como hipervariables permite hacer asignación taxonómica a nivel de género y, en ocasiones, hasta a nivel de especie (Suarez Moya, 2017).

La diversidad de productos fermentados en el mundo, incluidos alimentos y bebidas (alcohólicas y no-alcohólicas) podría superar las 5000 variedades de productos, lo que representa el 20% de los alimentos que se consumen, y un consumo per cápita de entre 50 y 400 g de productos fermentados por día; asociado principalmente a que, generalmente, son alimentos de bajo costo, de características organolépticas aceptables y por el arraigo cultural que tienen con la gastronomía de sus regiones de origen (Prakash, 2010). Muchos de estos productos están elaborados a base de diversos materiales vegetales nativos, dentro de los que se incluyen Agave, Cacao y Maíz; aunque también destaca la gran variedad de quesos genuinos Mexicanos, elaborados principalmente a partir de leche de vaca, y la gran oferta de bebidas fermentadas (Pérez-Cataluña et al., 2017). El origen de muchos de estos productos fermentados artesanales, así como su consumo, se acota a regiones específicas, tradiciones locales e incluso eventos religiosos; aunque más recientemente, algunos de estos productos se consideran dentro de los “alimentos nostalgia” y su consumo puede asociarse también a aspectos generacionales e incluso por los posibles beneficios a la salud que ofrece su consumo, principalmente por el tipo de microorganismos involucrado en su elaboración (Espinoza-Ortega et al., 2021). En ese contexto, el proceso de fermentación involucrado en la elaboración de estos productos artesanales es resultado de la actividad metabólica de diversas bacterias, hongos y/o levaduras que, en la mayoría de los casos, son parte de la microbiota asociada a las materias primas utilizados para su elaboración. Estos microorganismos contribuyen al desarrollo de aromas, texturas, sabores y valor nutricional; así como a eliminar y destruir sustancias tóxicas y microorganismos indeseables o potencialmente patógenos para el humano (Robledo-Márquez et al., 2021).

El proceso de fermentación en estos alimentos generalmente es espontáneo, lo que en muchas ocasiones resulta en el desarrollo de comunidades microbianas complejas; por lo que su estudio puede llevarse a cabo bajo diferentes estrategias, como es el seguimiento de la presencia o sobrevivencia de grupos específicos de microorganismos; el aislamiento, identificación y caracterización de microorganismos benéficos o de interés para el proceso de elaboración; y el uso de tecnologías y ciencias ómicas, basadas en la obtención de material genético directo de los alimentos (ADN o ARN) para determinar la diversidad. Cabe destacar, que estas estrategias no son excluyentes entre sí, sino que pueden complementarse (Díaz y Wachter 2003).

El avance en las ciencias –ómicas ha permitido, de inicio, conocer cómo se componen y estructuran las comunidades microbianas de los alimentos fermentados, los cuales, usualmente, se caracterizan por exhibir comunidades de microorganismos (principalmente bacterias) muy complejas. Asimismo, la transcriptómica, basada en el estudio del RNA, permite establecer aspectos funcionales de las comunidades de microorganismos presentes en matrices complejas, lo que incluye conocer los genes que se expresan bajo ciertas circunstancias, niveles de expresión génica, mediante lo que se logra un mejor entendimiento no solo de la expresión, sino de la interacción y vinculación de genes (Mark, 2023). Ejemplo de ello es lo observado mediante metagenómica y metatranscriptómica de un queso madurado, mediante lo cual se logró comprender de mejor manera el proceso de maduración, así como algunas de las principales actividades metabólicas de los microorganismos involucrados y las posibles interacciones entre estos, además de que permitió seleccionar genes candidatos a funcionar como biomarcadores que puedan ser utilizados para monitorear el proceso de elaboración y maduración del queso (Dugat-Bony et al., 2015). En otro estudio, con el objetivo de evaluar la actividad de microorganismos utilizados para la elaboración de un queso madurado, mediante análisis transcriptómico se logró diferenciar entre la actividad asociada a la inoculación con bacterias y levaduras en el queso. Las diferencias observadas correspondieron a la expresión de genes involucrados en la absorción de amoníaco, catabolismo de la galactosa, catabolismo de aminoácidos y activación de la cadena de transporte de electrones, información relevante para predecir o controlar el proceso de maduración en términos de metabolismo y acumulación de compuestos (Monnet et al., 2016). Este tipo de abordaje ha sido aplicado también a productos poco explorados o estudiados como

el té Pu-erh, un té tradicional chino, ya que mediante la combinación de metagenómica y metatranscriptómica se describió que la microbiota está fuertemente representada por bacterias (principalmente Proteobacteria) y hongos de género *Aspergillus*; de igual manera se identificaron 355 proteínas, involucradas dentro de 28 procesos biológicos y 35 categorías de funciones moleculares. Los autores destacan a *Aspergillus* como el principal hospedero de las proteínas identificadas, con enzimas involucradas en la degradación de compuestos de la pared celular vegetal, así como peroxiredoxinas, catalasas y peroxidases, importantes para la oxidación de catequinas (Zhao, M. et al., 2015). Algunos otros ejemplos sobre el uso de las ciencias ómicas para el estudio del microbioma asociado a alimentos fermentados se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Uso de diferentes disciplinas de las ciencias ómicas para el estudio del microbioma asociado a alimentos fermentados. (Use of different disciplines of omics sciences to study the microbiome associated with fermented foods)

Aplicación	Producto	Estrategia metodológica	Resultados relevantes	Referencia
Secuenciación basada en amplicones	Iniciador natural de suero para elaborar Queso Parmesano Regiano.	Colecta de 91 muestras de suero en diferentes momentos del proceso de elaboración. Dos líneas de producción (convencional y orgánico). Secuenciación de regiones V3-V4 del gen 16S rRNA en plataforma MiSeq de Illumina.	Alta resiliencia de bacterias ácido lácticas termófilas, involucradas en la acidificación y maduración. Adaptación de la microbiota a los diferentes parámetros tecnológicos.	Bertani <i>et al.</i> , 2020
Secuenciación basada en amplicones	Queso adobera de los Altos de Jalisco. México	Colecta de muestras en cuatro etapas del proceso de elaboración y dos temporadas del año. Secuenciación de amplicones de siete regiones del gen 16S rRNA (Ion 16S metagenomics kit®) en plataforma S5 Studio de Ion Torrent.	Mayor diversidad de bacterias al inicio del proceso en comparación con etapas finales. Familias predominantes: <i>Streptococcaceae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> y <i>Lactobacillaceae</i> . Diferencias asociadas a la temporada del año.	Ruvalcaba <i>et al.</i> , 2021
Secuenciación basada en amplicones	Kimchi vegano	Preparación de kimchi vegano y no vegano, extracción de DNA y preparación de librerías (región V4 del gen 16S rRNA), secuenciación en plataforma Illumina MiSeq, análisis bioinformático y estadístico.	Las comunidades bacterianas observadas al inicio de la fermentación fueron diferentes entre el kimchi a base de pescado y el preparado a partir de pasta de miso; no obstante, hacia el final del proceso no se observaron diferencias entre sus comunidades bacterianas al final del proceso.	Zabat <i>et al.</i> , 2018
Transcriptómica	Suero de soya fermentado con Kéfir.	Fermentación del suero de soya, extracción y cuantificación de polifenoles, evaluación de actividad antimicrobiana contra <i>Escherichia coli</i> y <i>Listeria monocytogenes</i> , extracción de RNA microbiano, secuenciación en plataforma HiSeq 2000 mRNA (Illumina).	Los compuestos fenólicos inducen la expresión de 1850 genes en <i>E. coli</i> O157:H7 y 2090 en <i>L. monocytogenes</i> . Supresión de genes para uso de carbohidratos, transporte de glucosa y síntesis de ácido tricarbóxico y ATP.	Azi <i>et al.</i> , 2022

Proteómica	Pozol (México)	Dos muestras de masa de maíz nixtamalizado fermentadas a 30°C por 15 días, pulverización con CO ₂ sólido, congelación a -70°C, segunda pulverización en mortero con CO ₂ sólido, solubilización, extracción, cuantificación y digestión de proteínas, análisis proteómico mediante cromatografía líquida y espectrometría de masas, búsqueda en bases de datos.	Se identificaron una gran cantidad de proteínas de origen bacteriano y fúngico. Predominan proteínas del género <i>Lactobacillus</i> en el caso de bacterias, y del género <i>Aspergillus</i> en el caso de hongos. Las proteínas predominantes fueron las asociadas al metabolismo de carbohidratos y producción de energía.	Cárdenas <i>et al.</i> , 2014
Metabolómica	Kéfir de agua	Producción de kéfir, descripción de la estructura de la microbiota del kéfir (plataforma Illumina, anotación en base de datos GTDB), detección de metabolitos volátiles (GC-TOF-MS) y no-volátiles (LC-MS/MS) (metabolómica no dirigida).	Especies predominantes: <i>Schleiferilactobacillus perolens</i> , <i>Liquorilactobacillus vini</i> , <i>Lentilactobacillus diolivorans</i> , <i>Schleiferilactobacillus harbinensi</i> , <i>Lentilactobacillus hilgardii</i> , <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> , <i>Liquorilactobacillus ghanensis</i> y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . Marcadores metabólicos principales: N-acetil-L-apartato, β-alanina y O-acetilserina, involucradas en el metabolismo de alanina, aspartato y glutamato. Correlación positiva entre aminoácidos y ácidos orgánicos.	Ma <i>et al.</i> , 2024

Fuente: elaboración propia.

El estudio de los microbiomas asociados a la producción de alimentos no solo ha permitido conocer la diversidad de microorganismos involucrados durante su procesamiento, sino que también ha sido la base para establecer el potencial benéfico de algunos de esos microorganismos y sus metabolitos; particularmente, se ha elucidado que los alimentos fermentados tradicionales pueden ser reservorio de microorganismos con potencial probiótico.

3.4 Las ciencias -ómicas para el estudio de alimentos funcionales con microorganismos probióticos

De acuerdo con la Asociación Científica Internacional sobre Probióticos, los probióticos son cepas de microorganismos que, al ser ingeridos en cantidades adecuadas, pueden otorgar beneficios al consumidor (Hill *et al.*, 2014). Dentro de los beneficios que ofrecen, posterior a la colonización del intestino, se encuentran la mejora de las funciones gastrointestinales, producción de compuestos con actividad biológica, reducción del pH del lumen, síntesis de vitaminas, reforzar la barrera intestinal, metabolismo de sales biliares, modulación de la respuesta inmune, entre otras; lo que ha llevado a la inclusión de los probióticos como componentes nutraceuticos en la dieta para actuar como coadyuvantes en el tratamiento de diversas patologías, como son el síndrome metabólico y la hipertensión (Vijayaram *et al.*, 2024).

La fuente principal de probióticos son los alimentos fermentados, ya que estos en muchas ocasiones son reservorio de grandes cantidades de microorganismos vivos que, además de ser los responsables del proceso de fermentación, potencialmente pueden ser benéficos para la salud del consumidor, además de que contribuyen a garantizar la vida de anaquel de los productos que los contienen. Es importante resaltar que, aunque una gran mayoría de alimentos y bebidas fermentadas contienen importantes cantidades de microorganismos vivos, no es garantía de que exhiban potencial probiótico, por lo que es importante realizar estudios dirigidos a establecer dicho potencial. Lo anterior, debe comenzar con el estudio de la diversidad de microorganismos que habitan en el alimento, seguido de abordajes que permitan evaluar la expresión de genes y producción de metabolitos que pudieran ser considerados benéficos. A partir de ese punto, los estudios se deberán complementar con el aislamiento y selección de microorganismos específicos, así como, con la evaluación *in vitro* y posteriormente en modelos *in vivo* del potencial probiótico de dichos microorganismos y descartar factores de riesgo asociados a su consumo, como puede ser la producción de toxinas o la resistencia a antibióticos.

Debido a que la demanda de probióticos ha crecido particularmente en años recientes, la incorporación de las ciencias -ómicas durante su estudio ha sido determinante para aumentar considerablemente el acervo de cepas con potencial probiótico reconocido. El aporte de estas disciplinas ha ido desde la secuenciación de genoma completo de cepas probióticas hasta el estudio del microbioma intestinal, lo que ha contribuido a aumentar las perspectivas de evaluación de los probióticos, por el conocimiento que se tiene de que sus cualidades pueden ir más allá de los efectos directos que ofrece cada cepa probiótica (Stincone *et al.*, 2022) (Figura. 1). La Tabla 2 enlista algunas aplicaciones de las ciencias -ómicas para el estudio de alimentos con la adición de probióticos durante su elaboración y/o su efectividad.

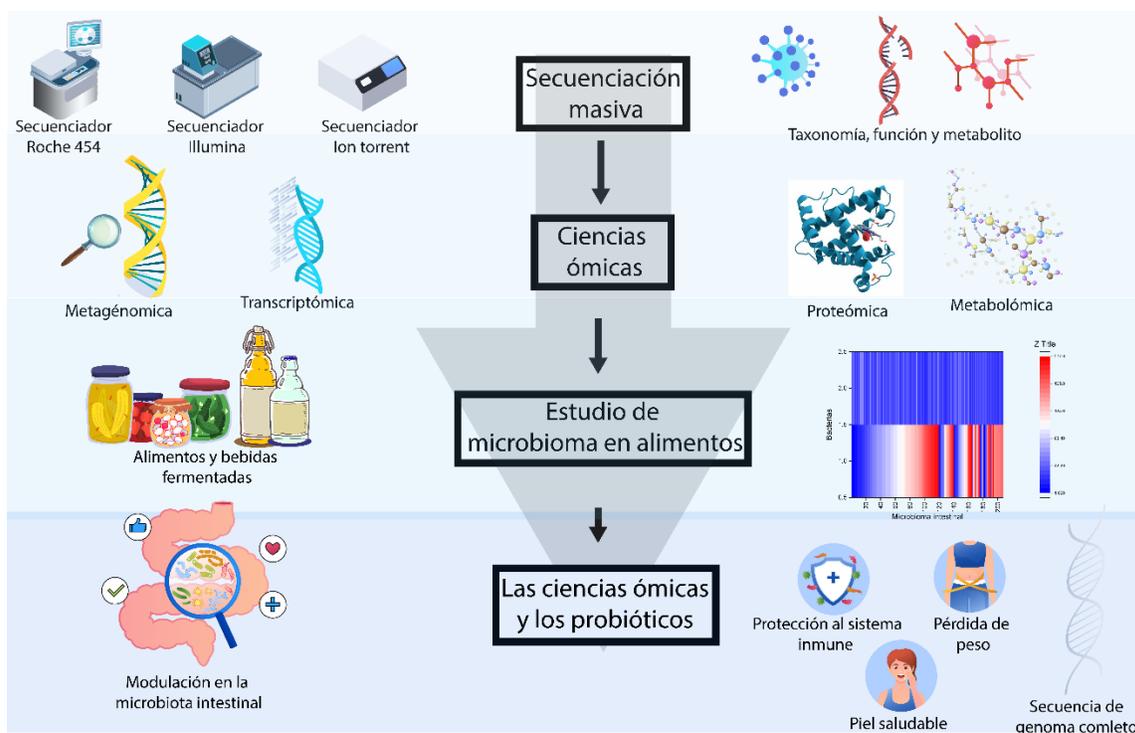


Figura. 1. La incorporación de las ciencias ómicas para el estudio de microbiomas, con énfasis en el desarrollo y evaluación de microorganismos probióticos. (The incorporation of omics sciences for the study of microbiomes, with emphasis on the development and evaluation of probiotic microorganisms). Fuente: elaboración propia.

Tabla 2. Uso de las ciencias ómicas para el estudio del microbioma de alimentos funcionales que contienen probióticos. (Use of omics sciences to study the microbiome of functional foods containing probiotics)

Aplicación	Producto	Estrategia metodológica	Resultados relevantes	Referencia
Transcriptómica	Masa gelatinizada de con almidón de mijo inoculada con <i>Lactobacillus plantarum</i> A6.	Inoculación (1% v/v) de la masa gelatinizada con el probiótico. Fermentación a 30°C en condiciones estáticas por 5 h y toma de muestras cada hora. Extracción de RNA y síntesis de cDNA seguida de secuenciación con tecnología HiSeq (Illumina). Anotación de genomas en plataforma MicroScope y análisis de transcriptoma con el pipeline bioinformático TAMARA.	Plasticidad en cinco regiones genómicas. 362 secuencias codificantes con funciones no conocidas fueron específicas para <i>L. plantarum</i> A6. Expresión diferencial de 1201 genes. Se identificaron genes que codifican para funciones específicas relacionadas con la calidad nutricional. Se identificaron transportadores de alfa amilasa extracelular, neopululanasa y maltodextrina.	Turpin <i>et al.</i> , 2018
Secuenciación basada en amplicones	Leche fermentada con <i>Lactocaseibacillus paracasei</i> JY062 y <i>Lactobacillus gasseri</i> JM1	Preparación de la leche fermentada mediante la adición de las bacterias probióticas, suplementación por 14 d de ratones, evaluación de indicadores fisiológicos, análisis histológico, determinación de péptidos y neurotransmisores, descripción de la microbiota intestinal (secuenciación de región V3-V4 del gen 16S rRNA, Illumina MiSeq).	Incremento en la secreción de motilina sérica, gastrina y 5-hidroxitriptamina; reducción de péptido YY, péptido vasoactivo intestinal y óxido nítrico en ratones. Incremento de la abundancia relativa de <i>Lactobacillus</i> , <i>Oscillospira</i> , <i>Ruminococcus</i> , <i>Coprococcus</i> , y <i>Akkermansia</i> ; reducción de <i>Prevotella</i> .	Cheng <i>et al.</i> , 2023
Metabólica	Queso Beyaz peynir adicionado con cultivos adjuntos probióticos (<i>Lactobacillus acidophilus</i> DSMZ 20079 y <i>Bifidobacterium bifidum</i> DSMZ 20456)	Preparación de queso a escala piloto con la adición de los probióticos, evaluación de la composición química de los quesos, determinación de compuestos volátiles mediante HS-SPME/GC-MS.	El tipo de empaque, la adición del cultivo y tiempo de maduración determinaron el perfil del volatiloma. 54 diferentes compuestos volátiles fueron identificados.	Erkaya-Kotan y Hayaloglu, 2024
Metagenómica	Queso Burrata adicionado con un cultivo protector (<i>Lactobacillus plantarum</i> LPAL y <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LRB),	Elaboración de seis quesos Burrata diferenciados por la adición de pro- y prebióticos, análisis composicional, microbiota cultivable, extracción de RNA, transcripción reversa, y secuenciación de	La adición de prebióticos y bacterias protectoras modificó los índices de diversidad alfa y beta en los quesos. El análisis de la microbiota cultivable y	Minervini <i>et al.</i> , 2017

	fructooligosacáridos e inulina.	microbioma en plataforma MiSeq (Illumina).	del microbioma de los quesos mostró la reducción de algunos componentes de la microbiota, incluidos <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactococcus lactis</i> , y <i>Leuconostoc lactis</i> durante la elaboración y almacenamiento.	
--	---------------------------------	--	--	--

Fuente: elaboración propia.

4. CONCLUSIONES

El estudio del microbioma involucrado en la producción de alimentos ha sido fundamental para elucidar no solo la composición, estructura y funciones de las comunidades microbianas, sino que ha servido como base para el diseño, valorización y protección de los alimentos, sobre todo de alimentos fermentados tradicionales, cuyos procesos de elaboración se caracterizan por estar mediados por comunidades microbianas complejas. La integración de diversas disciplinas de las ciencias -ómicas ha permitido una mejor comprensión del microbioma y del potencial biotecnológico del mismo. También han funcionado para evaluar los efectos y efectividad de la inclusión de microorganismos con potencial probiótico en el desarrollo de alimentos funcionales.

AGRADECIMIENTOS

Macro Red del ámbito de la Industria Alimentaria perteneciente al Subcomité de Recursos Genéticos Microbianos e Invertebrados del Comité Sectorial de Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura (AGRICULTURA-México).

REFERENCIAS

- Allali, I., Arnold, J. W., Roach, J., Cadenas, M. B., Butz, N., Hassan, H. M., Koci, M., Ballou, A., Mendoza, M., Ali, R. y Azcarate-Peril, A. (2017). A comparison of sequencing platforms and bioinformatics pipelines for compositional analysis of the gut microbiome. *BMC Microbiol.*, 17, 194.
- Azi, F., Li, Z., Xu, P., Dong, M. (2022). Transcriptomic analysis reveals the antibacterial mechanism of phenolic compounds from kefir fermented soy whey against *Escherichia coli* 0157:H7 and *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol.*, 16, 383:109953.
- Bertani, G., Levante, A., Lazzi, C., Bottari, B., Gatti, M., y Neviani, E. (2019). Dynamics of a natural bacterial community under technological and environmental pressures: the case of natural whey starter for Parmigiano Reggiano cheese. *Food Research International*, 108860.
- Cárdenas, C., Barkla, B. J., Wachter, C., Delgado-Olivares, L., Rodríguez-Sanoja, R. (2014) Protein extraction method for the proteomic study of a Mexican traditional fermented starchy food. *J Proteomics*, 5(111), 139-47.
- Cué Brugueras, Manuel, Díaz Alonso, Guillermo, Díaz Martínez, Ana Gloria, & Valdés Abreu, Manuela de la C. (2008). El artículo de revisión. *Revista Cubana de Salud Pública*, 34(4).
- Cheng, S., Li, B., Ding, Y., Hou, B., Hung, W., He, J., Jiang, Y., Zhang, Y., Man, C. (2024). The probiotic fermented milk of *Lacticaseibacillus paracasei* JY062 and *Lactobacillus gasseri*

- JM1 alleviates constipation via improving gastrointestinal motility and gut microbiota. *J Dairy Sci.*, 107(4), 1857-1876.
- Díaz, R. G., Wacher, R. C. (2003). Métodos para el estudio de comunidades microbianas en alimentos fermentados. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 45(1-2), 30-40.
- Dohm, J. C., Lottaz, C., Borodina, T. y Himmelbauer, H. (2008). Substantial biases in ultra-short read data sets from high-throughput DNA sequencing. *Nucleic Acids Res.* 36(16):e105.
- Droege, M. y Hill, B. (2008) The Genome Sequencer FLX System--longer reads, more applications, straight forward bioinformatics and more complete data sets. *J Biotechnol.* 136(1-2), 3-10.
- Dugat-Bony, E., Straub, C., Teissandier, A., Onésime, D., Loux, V., Monnet, C., Irlinger, F., Landaud, S., Leclercq-Perlat, M. N., Bento, P., Fraud, S., Gibrat, J. F., Aubert, J., Fer, F., Guédon, E., Pons, N., Kennedy, S., Beckerich, J. M., Swennen, D., Bonnarme, P. (2015). Overview of a Surface-Ripened Cheese Community Functioning by Meta-Omics Analyses. *PLoS ONE* 10(4), e0124360.
- Erkaya-Kotan, T. y Hayaloglu, A. A. (2024). Volatilome profile (HS-SPME/GC-MS) and proteolysis in Beyaz peynir (white-brined cheese) made using different probiotic adjunct cultures and ripening under brine or vacuum package systems, and chemometric analysis. *International Dairy Journal*, 152, 105894.
- Espinoza-Ortega, A. (2021). Nostalgia in food consumption: Exploratory study among generations in Mexico. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 25, 100399.
- Ewing, B., y Green, P., (1998). Base-calling of automated sequencer traces using phred. II. Error probabilities. *Genome Res.*, 8, 186-194.
- Fricke, A. M., Podlesny, D., y Florian Fricke, W. (2019). *What is new and relevant for sequencing-based microbiome research? A minireview.* Journal of Advanced Research, 19, 105-112.
- Guo, J., Xu, N., Li, Z., Zhang, S., Wu, J., Kim, D. H., Sano, M. M., Meng, Q., Cao, H., Li, X., Shi, S., Yu, L., Kalachikov, S., Russo, J. J., Turro, N. J. y Ju, J. (2008). Four-color DNA sequencing with 30-O-modified nucleotide reversible terminators and chemically cleavable fluorescent dideoxynucleotides. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105(27), 9145-9150.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Berni, C. R., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C., y Sanders, M. E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 11, 506-14.
- Lavezzo, E., Barzon, L., Toppo, S., y Palù, G. (2016). Third generation sequencing technologies applied to diagnostic microbiology: benefits and challenges in applications and data analysis. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 16(9), 1011-1023.
- Liu, L., Li, Y., Li, S., Hu, N., He, Y., Pong, R., Lin, D., Lu, L. y Law, M. (2012). Comparison of next-generation sequencing systems. *J Biomed Biotechnol*, 2012:251364.
- López-de Heredia, U. (2016). Las técnicas de secuenciación masiva en el estudio de la diversidad biológica. *Munibe, Cienc. nat.*, 64, 7-31.
- Ma, D., Wang, B., Xiao S. y Wang, J. (2024). Non-targeted metabolomics unveils metabolic spectrum characteristics and core metabolite interaction networks in water kefir fermentation. *LWT*, 195, 115840.
- Marine, R. L., Magaña, L. C., Castro, C. J., Zhao, K., Montmayeur, A. M., Schmidt, A., Diez-Valcarrea, M., Fan N., T. F., Vinjéa, J., Burnsa, C. C., Nixa, W. A., Rotaa, P. A., y Oberste, M. S. (2020). Comparison of Illumina MiSeq and the Ion Torrent PGM and S5 platforms for whole-genome sequencing of picornaviruses and caliciviruses. *Journal of Virological Methods*, 113865.
- Mark A., A. (2023). Chapter 23 - Proteomics and transcriptomics and their application in fermented foods, Editor(s): Oluwafemi Ayodeji Adebo, Chiemela Enyinnaya Chinma, Adewale Olusegun Obadina, Antonio Gomes Soares, Sandeep Kumar Panda, Ren-You Gan, Indigenous Fermented Foods for the Tropics, Academic Press, Pp 377-391.

- Mellmann, A., Harmsen, D., Cummings, C. A., Zentz, E. B., Leopold, S. R., Rico, A., Prior, K., Szczepanowski, R., Ji, Y., Zhang, W., McLaughlin, S. F., Henkhaus, J. K., Leopold, B., Bielaszewska, M., Prager, R., Brzoska, P. M., Moore, R. L., Guenther, S., Rothberg, J. M. y Karch, H. (2011). Prospective genomic characterization of the German enterohemorrhagic *Escherichia coli* O104:H4 outbreak by rapid next generation sequencing technology. *PLoS One*, 6(7):e22751.
- Minervini, F., Conte, A., Del Nobile, M. A., Gobetti, M., De Angelis, M. (2017). Dietary fibers and protective lactobacilli drive burrata cheese microbiome. *Appl Environ Microbiol*, 83, e01494-17.
- Monnet, C., Dugat-Bony, E., Swennen, D., Beckerich, J.-M., Irlinger, F., Fraud, S., & Bonnarme, P. (2016). Investigation of the Activity of the Microorganisms in a Reblochon-Style Cheese by Metatranscriptomic Analysis. *Frontiers in Microbiology*, 7, 536.
- Pérez-Cataluña, A., Elizaquível, P., Carrasco, P., Espinosa, J., Reyes, D., Wachter, C., & Aznar, R. (2017). Diversity and dynamics of lactic acid bacteria in Atole agrio, a traditional maize-based fermented beverage from South-Eastern Mexico, analysed by high throughput sequencing and culturing. *Antonie van Leeuwenhoek*, 111(3), 385–399.
- Prakash, T. J. (2010). Diversity of Fermented Foods. En: *Fermented Foods and Beverages of the World* 1ra edición (Prakash T.J. y Kailasapathy K. eds.) CRC Press, Boca Raton, Florida, EUA.
- Ramírez-Navas, J. S., Jaramillo-López, F. y Lopez-Parra, L. L. (2023). Las disciplinas ómicas en la ciencia de los alimentos. *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 10 (2), 1-22.
- Reuter, J. A., Spacek, D. V. y Snyder, M. P. (2015). High-throughput sequencing technologies. *Mol Cell*, 58(4), 586-97.
- Reyes B., Humberto. (2020). Artículos de Revisión. *Revista médica de Chile*, 148(1), 103-108.
- Robledo-Márquez, K., Ramírez, V., González-Córdova, A. F., Ramírez-Rodríguez, Y., García-Ortega, L., Trujillo, J. (2021). Research opportunities: Traditional fermented beverages in Mexico. Cultural, microbiological, chemical, and functional aspects. *Food Res Int.*, 147, 110482.
- Rojas-Villalta, D., Benavides-Villegas, D., Angulo-Hidalgo, B., Muñoz-Solorzano, L., y Consumi-Tubito, C. (2024). Caracterización de las tecnologías de secuenciación genética de segunda y tercera generación. *Revista Tecnología En Marcha*, 37(2), 70–81.
- Ruvalcaba-Gómez, J. M., Delgado-Macuil, R. J., Zelaya-Molina, L. X., Maya-Lucas, O., Ruesga-Gutiérrez, E., Anaya-Esparza, L. M., Villagrán-de la Mora, Z., López-de la Mora, D. A., Arteaga-Garibay, R. I. (2021). Bacterial Succession through the Artisanal Process and Seasonal Effects Defining Bacterial Communities of Raw-Milk Adobera Cheese Revealed by High Throughput DNA Sequencing. *Microorganisms*, 9, 24.
- Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 74, 5463-5467.
- Shendure J. A, Porreca GJ, Church GM, Gardner AF, Hendrickson CL, Kieleczawa J, Slatko BE. Overview of DNA sequencing strategies. *Curr Protoc Mol Biol*. 2011 Oct;Chapter 7:Unit7.1
- Stincone, P., Brandelli, A. y Angelis, M. (2022). High-throughput technologies in probiotics science. *Advanced Food and Health Applications*, 2022, 77-101.
- Suárez, M. A. (2017). Microbioma y secuenciación masiva. *Revista Española de Quimioterapia*, 30(5), 305-311.
- Tabor, S. y Richardson, C.C. (1995). A single residue in DNA polymerases of the *Escherichia coli* DNA polymerase I family is critical for distinguishing between deoxy- and dideoxyribonucleotides. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 92, 6339-6343.
- Tilocca, B., Costanzo, N., Morittu, V. M., Spina, A. A., Soggiu, A., Britti, D., Roncada, P. y Piras, C. (2019). Milk microbiota: Characterization methods and role in cheese production. *J Proteomics*, 210, 103534.

- Turpin, W., Weiman, M., Guyot, J.-P., Lajus, A., Cruveiller, S., & Humblot, C. (2018). The genomic and transcriptomic basis of the potential of *Lactobacillus plantarum* A6 to improve the nutritional quality of a cereal based fermented food. *International Journal of Food Microbiology*, 266, 346–354.
- Vijayaram, S., Sun, Y., Ringoe, E., Razafindralambo, H., Mahendran, K., Murugappan, R., Duraikannu, K. (2024). Probiotics: Foods and Health Benefits – An Updated Mini Review. *Journal of Medical Microbiology*, 2, 1-11.
- Zabat, M. A., Sano, W. H., Cabral, D. J., Wurster, J. I., y Belenky, P. (2018). The impact of vegan production on the kimchi microbiome. *Food Microbiology*, 74, 171–178.
- Zhao, M., Zhang, D., Su, X., Duan, S., Wan, J., Yuan, W., ... Pan, Y. (2015). An Integrated Metagenomics/Metaproteomics Investigation of the Microbial Communities and Enzymes in Solid-state Fermentation of Pu-erh tea. *Scientific Reports*, 5(1), 10117.