

Producción de fructooligosacáridos en jugo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) por *Bacillus subtilis*

Production of fructooligosaccharides in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) juice by *Bacillus subtilis*

Alaín Martínez-Pérez¹ , Marco Antonio Martínez-Cervantes² , Jorge Enrique Wong-Paz³ ,
Diana Beatriz Muñiz-Márquez^{3*} 

¹Laboratorio Nacional CONAHCYT de Apoyo a la evaluación de Productos Bióticos (LaNAEPBi), Unidad de Servicio Tecnológico Nacional de México/I.T. Durango. Felipe Pescador 1830 Ote. Col. Nueva Vizcaya, CP. 34080. Durango, Durango, México.

²Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Ciudad Valles, Carretera al Ingenio Plan de Ayala, Col. Vista Hermosa, CP. 79010. Ciudad Valles, San Luis Potosí, México.

³Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Estudios Profesionales Zona Huasteca, Romualdo del campo 501, Fraccionamiento Rafael Curiel, CP. 79060. Ciudad Valles, San Luis Potosí, México.

*Autor de correspondencia: diana.marquez@uaslp.mx

Nota científica

Recibida: 24 de octubre 2025

Aceptada: 30 de junio 2026

RESUMEN. La producción de fructooligosacáridos (FOS) a partir de jugo de caña de azúcar mediante fermentación microbiana ha sido poco explorada. El objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad de *Bacillus subtilis* para sintetizar FOS utilizando jugo de caña de azúcar fresco (*Saccharum officinarum* L.) como sustrato en fermentación sumergida. La producción de FOS se optimizó mediante un diseño experimental Taguchi L9 y se cuantificó mediante cromatografía en capa fina (TLC) semicuantitativa y análisis digital de imágenes. El jugo fresco bajo condiciones nativas de pH y °Brix presentó el mejor desempeño, alcanzando una producción de 7.44 g L⁻¹ de FOS después de 48 h de fermentación y una conversión del 10.2% de la sacarosa inicial. Los resultados demuestran la viabilidad de utilizar jugo de caña de azúcar fresco como materia prima directa para la producción de FOS con potencial aplicación en el desarrollo de ingredientes prebióticos.

Palabras clave: Fructooligosacáridos, *Bacillus subtilis*, Fermentación sumergida, Prebióticos.

ABSTRACT. The production of fructooligosaccharides (FOS) from sugarcane juice through microbial fermentation has been scarcely explored. The aim of this study was to evaluate the ability of *Bacillus subtilis* to synthesize FOS using fresh sugarcane juice (*Saccharum officinarum* L.) as a substrate under submerged fermentation conditions. FOS production was optimized using a Taguchi L9 experimental design and quantified by semiquantitative thin-layer chromatography (TLC) coupled with digital image analysis. Fresh sugarcane juice under its native pH and °Brix conditions showed the best performance, reaching 7.44 g L⁻¹ of FOS after 48 h of fermentation and a conversion of 10.2% of the initial sucrose. The results demonstrate the feasibility of using fresh sugarcane juice as a direct feedstock for FOS production and highlight its potential for the development of prebiotic ingredients.

Keywords: Fructooligosaccharides, *Bacillus subtilis*, Submerged fermentation, Prebiotics.

Como citar: Martínez-Pérez A, Martínez-Cervantes MA, Wong-Paz JE, Muñiz-Márquez DB (2026) Producción de fructooligosacáridos en jugo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) por *Bacillus subtilis*. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 13(2): e4873. DOI: 10.19136/era.a13n2.4873.

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial y constituye una fuente abundante de sacarosa, principal carbohidrato presente en su jugo (Arif *et al.* 2019). Debido a su elevado contenido de azúcares, el jugo de caña ha sido ampliamente utilizado como materia prima para la producción de alimentos, biocombustibles y diversos compuestos de valor agregado mediante procesos biotecnológicos (Gómez-Merino *et al.* 2017). En los últimos años, ha surgido un creciente interés por su aprovechamiento para la obtención de ingredientes funcionales, particularmente fructooligosacáridos (FOS), compuestos prebióticos sintetizados a partir de sacarosa mediante la acción de enzimas fructosiltransferasas producidas por diversos microorganismos (Singh *et al.* 2017, Martínez-Pérez *et al.* 2025). Estas características convierten al jugo de caña de azúcar en un sustrato atractivo para el desarrollo de bioprocesos orientados a la producción sostenible de compuestos con valor agregado.

Los FOS son oligosacáridos de cadena corta compuestos principalmente por unidades de fructosa y, en muchos casos, una molécula terminal de glucosa derivada de sacarosa. Aunque los FOS más estudiados corresponden a estructuras lineales con enlaces β -(2→1), conocidas como inulina-FOS, también existen FOS lineales con enlaces β -(2→6), derivados de levanas, así como estructuras ramificadas que contienen ambos tipos de enlaces, como las agavinas (De-la-Rosa *et al.* 2023, Fernandes 2025). Debido a que estos enlaces no son hidrolizados por las enzimas digestivas humanas, los FOS llegan al colon donde son fermentados selectivamente por la microbiota intestinal, produciendo ácidos grasos de cadena corta y otros metabolitos asociados con beneficios para la salud, por lo que son reconocidos como prebióticos (Singh *et al.* 2017, Fernandes 2025). Los FOS pueden obtenerse mediante la hidrólisis enzimática de fructanos de origen vegetal o por transfructosilación de sacarosa catalizada por fructosiltransferasas y β -fructofuranosidasas (Martínez-Pérez *et al.* 2024). Entre los microorganismos más estudiados para su producción destacan hongos de los géneros *Aspergillus*, *Aureobasidium* y *Penicillium*, así como bacterias de los géneros *Bacillus*, *Leuconostoc* y *Zymomonas* (Maiorano *et al.* 2008, Singh *et al.* 2017).

La síntesis de FOS a partir de microorganismos como los antes mencionados se puede llevar a cabo mediante fermentación en estado sólido (SSF) o fermentación sumergida (SmF). No obstante, la SmF es el método más utilizado debido al mejor control de parámetros que favorecen la producción de las enzimas involucradas. Generalmente, los ensayos se realizan en matraces agitados, siendo menos comunes los estudios en biorreactores (Dominguez *et al.* 2014). La SmF presenta ventajas sobre la SSF, como un crecimiento microbiano más rápido por la distribución homogénea de nutrientes y una purificación más sencilla de los metabolitos (Subramaniyam y Vimala 2012).

A pesar del creciente interés en la producción biotecnológica de FOS, los estudios que emplean jugo de caña de azúcar fresco como sustrato para su síntesis aún son limitados (Santos *et al.* 2016, Noidee y Ninchan 2024, Martínez-Pérez *et al.* 2025). Esta situación evidencia la necesidad de generar información que contribuya a evaluar la viabilidad de esta materia prima para la obtención de ingredientes funcionales de interés industrial. En este contexto, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el potencial de *Bacillus subtilis* para la producción de FOS a partir de jugo de caña de azúcar mediante fermentación sumergida en un biorreactor agitado neumáticamente bajo

condiciones aeróbicas, contribuyendo al desarrollo de procesos biotecnológicos orientados a la valorización de materias primas agroindustriales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Extracción de jugo de caña de azúcar

El jugo de caña de azúcar crudo se obtuvo en septiembre de 2019 en Tanlajás, San Luis Potosí, México. Se empleó la variedad MY 55-14, con una edad de madurez de 12 meses. La extracción se realizó mediante un molino de prensa manual, seguida de filtración a través de paños de muselina. El jugo fresco se almacenó a -20 °C para su posterior clarificación y uso en el proceso de fermentación.

Clarificación del jugo de caña de azúcar

La clarificación del jugo se realizó siguiendo la metodología propuesta por Laksameethanasan *et al.* (2012), utilizando bentonita al 3% (p/v) y carbón activado al 0.3% (p/v). La clarificación se realizó mezclando un litro de jugo de caña de azúcar con el carbón activado y bentonita en una parrilla de agitación magnética a 70 °C durante 10 min. Para facilitar la separación de los lodos producidos, el jugo se centrifugó a 1004 (×g) durante 3 min a temperatura ambiente. Los resultados se evaluaron en función de la reducción del color y la turbidez mediante espectrofotometría (Thermo Scientific™ GENESYS 10S UV-Vis) a 420 nm y 900 nm, respectivamente. Los resultados se expresan como absorbancia, cuanto menor es la absorbancia, menor es la turbidez y más claro es el color.

Microorganismos y medio de cultivo

La cepa de *B. subtilis* fue proporcionada por el Laboratorio de Análisis de Alimentos del Instituto Tecnológico de Ciudad Valles. La cepa se reactivó en caldo Man-Rogosa-Sharpe (MRS) a 37 °C durante 24 h y se propagó en agar MRS por estriado a 37 °C durante 24 h para verificar su viabilidad. El inóculo se preparó al 0.5, 1.0 y 1.5% a partir de un cultivo madre que se transfirió en tubos de ensayo con caldo MRS y se incubó a 37 °C durante 24 h.

Optimización de la producción de FOS por *B. subtilis* en fermentación sumergida

Se utilizó el diseño experimental de Taguchi con una matriz ortogonal estándar L9 (3³) para examinar tres factores (pH, °Brix y porcentaje de inóculo) en tres niveles. Los niveles de los factores estudiados y el diseño de la matriz ortogonal de Taguchi L9 se representan en la Tabla 1. Se llevó a cabo cada uno de los 9 experimentos indicados como corridas experimentales. Todos los experimentos se realizaron por triplicado en biorreactores de diseño propio a escala laboratorio, constituidos por recipientes de cultivo de 500 mL adaptados con un sistema de aireación continua mediante bombas de aire. Las fermentaciones se realizaron con un volumen de trabajo de 300 mL de jugo de caña de azúcar con una aireación de 4.6 veces el volumen del medio (vvm), y 37 °C durante 24 h. La cuantificación de FOS se realizó mediante cromatografía semicuantitativa TLC (Muñiz-Marquez *et al.* 2022). Las condiciones óptimas se validaron utilizando los parámetros optimizados por Taguchi con una cinética de 72 h. Nuevamente, la fermentación se realizó con condiciones constantes de aireación a 4.6 vvm, 300 mL de medio de cultivo y 37 °C. La validación

de las condiciones óptimas se ejecutó mediante la determinación del FOS por TLC. Se realizó un control de fermentación con el jugo de caña de azúcar sin modificaciones de pH y °Brix en el inóculo óptimo (1%).

Tabla 1. Diseño de matriz ortogonal L9 Taguchi y valores de respuesta.

No. de corrida	pH	°Brix	Inóculo*	FOS total (g L ⁻¹) **
1	1	1	1	0.62 ± 0.01
2	1	2	2	0.64 ± 0.06
3	1	3	3	0.94 ± 0.02
4	2	1	1	1.02 ± 0.43
5	2	2	2	1.04 ± 0.15
6	2	3	3	1.2 ± 0.14
7	3	1	1	0.62 ± 0.44
8	3	2	2	1.00 ± 0.25
9	3	3	3	1.31 ± 0.01
Factores		Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
pH		4.5	5.5	6.5
°Brix		13	18	23
Inóculo*		0.5	1	1.5

*El valor del nivel esta expresado en % (v/v). **Los valores corresponden al contenido de FOS a las 24 h; los valores se expresan como la media ± SD (n = 3).

Determinación del perfil de carbohidratos mediante TLC semicuantitativo y caracterización fisicoquímica

El perfil de carbohidratos después de la fermentación se cuantificó utilizando TLC semicuantitativa. Para ello, se colocó una mezcla de disolventes compuesta de propanol, butanol y agua (12:3:4) dentro de una cámara de vidrio como fase móvil (Kanaya *et al.* 1978). La fase estacionaria consistió en una placa de gel de sílice (10 × 10 cm) en la que se aplicaron muestras de 3 µL con una separación de 1 cm entre aplicaciones. Se eluyó la mezcla de solventes a 1, 3, 6 y 8 cm de la línea de aplicación, secándose entre cada ciclo de elución de los solventes. Para el revelado se preparó una solución reveladora conformada por anilina en acetona al 4% (50 mL), difenilamina en acetona al 4% (50 mL) y ácido fosfórico concentrado (10 mL), los cuales se mezclaron en un matraz con agitación hasta obtener una solución transparente (Anderson *et al.* 2000). Las placas de sílice se rociaron con la solución reveladora dentro de una campana de extracción y se secaron en una estufa a 100 °C durante cinco minutos. Posteriormente, se digitalizaron mediante escáner (HP DeskJet 1510, 600 ppp) y se analizaron con el software ImageJ. El procesamiento de imagen incluyó recorte de zonas cromatográficas, conversión a escala de grises (16 bits), ajuste automático de contraste y determinación del área en píxeles para cuantificación semicuantitativa (Muñiz-Marquez *et al.* 2022). La cuantificación de azúcares (sacarosa, fructosa y glucosa) y FOS (1-kestosa, nistosa y fructofuranosilnistosa) se realizó mediante curvas de calibración en un rango de 0.1 a 1 g L⁻¹, mientras que las muestras fueron diluidas para mantenerse en el rango de cuantificación.

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como media ± desviación estándar (DE). Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) seguido de la prueba de Tukey para comparar diferencias entre medias,

considerando un nivel de significancia de $p < 0.05$. El análisis estadístico se realizó con el software Statistica v7.0.61.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Clarificación del jugo de caña de azúcar

Los resultados del proceso de clarificación del jugo de caña de azúcar se presentan en la Figura 1. El jugo crudo mostró valores iniciales de absorbancia de 2.79 ± 0.05 (420 nm, color) y 1.15 ± 0.03 (900 nm, turbidez). Después del tratamiento con bentonita y carbón activado, la absorbancia a 420 nm disminuyó a 1.78 ± 0.11 , lo que representa una reducción del 36% en el color ($p < 0.05$). De manera similar, la absorbancia a 900 nm se redujo a 0.85 ± 0.02 , correspondiente a una disminución del 26% en turbidez ($p < 0.05$). Estos resultados indican una reducción significativa del color y la turbidez del jugo de caña, demostrando que el método de clarificación ayuda a mejorar la apariencia física del jugo de caña de azúcar.

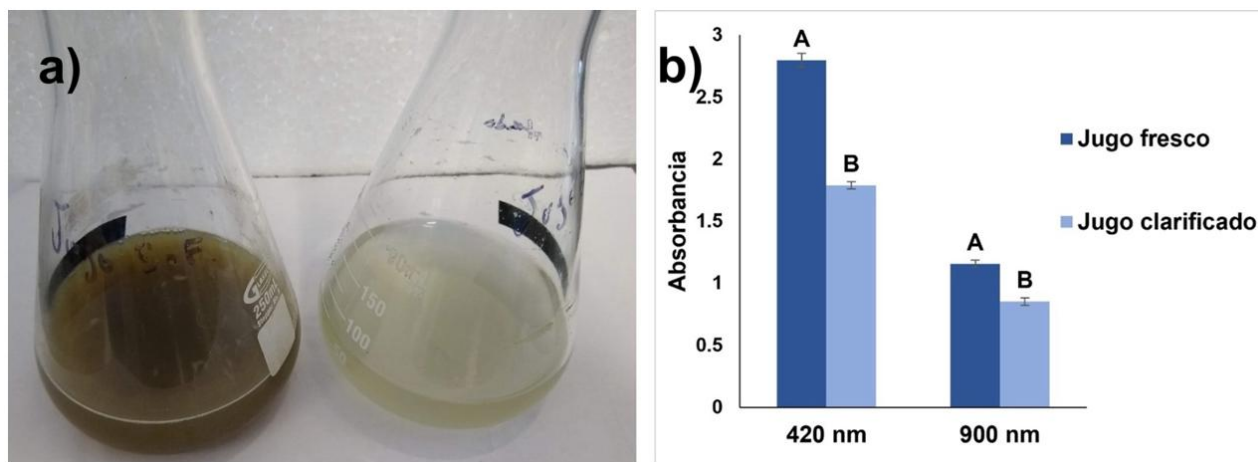


Figura 1. Clarificación del jugo de caña de azúcar mediante bentonita y carbón activado. a) Frascos con jugo de caña de azúcar, frasco izquierdo: jugo de caña de azúcar fresco, frasco derecho: jugo de caña de azúcar clarificado. b) Absorbancias del jugo de caña de azúcar fresco y clarificado.

La clarificación con bentonita y carbón activado resultó eficaz para reducir significativamente la turbidez y el color del jugo de caña, mejorando su apariencia y calidad visual. Los valores obtenidos para el color fueron ligeramente superiores a los reportados por Laksameethanasan *et al.* (2012), lo que podría atribuirse a la variedad de caña de azúcar y condiciones agroclimáticas (Arif *et al.* 2019). Por otra parte, el color del jugo de caña de azúcar se ve afectado por múltiples compuestos, entre ellos clorofilas, xantofilas, antocianinas y productos de las reacciones de Maillard y la caramelización, aunque los principales responsables son los compuestos fenólicos polimerizados (Ogando *et al.* 2019). En comparación con el método de clarificación basado en ácido cítrico propuesto por Nishad *et al.* (2017), la clarificación con bentonita y carbón activado fue más eficiente al tener mayor afinidad con otros compuestos como las proteínas, pectinas y hemicelulosas coloidales, lo que favorece un jugo más claro y estable.

Optimización de la producción de FOS

La influencia del pH, los °Brix y el porcentaje de inóculo en la producción de FOS por *B. subtilis* en fermentación sumergida se evaluó mediante un diseño experimental Taguchi L9 (Tabla 1). La producción de FOS varió entre 0.62 y 1.31 g L⁻¹. La combinación óptima correspondió a pH 5.5, 23 °Brix e inóculo del 1% (v/v), alcanzando la mayor producción (corrida 9).

Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) se muestran en la Tabla 2. Los °Brix fueron el factor más significativo ($p < 0.05$), con la mayor contribución porcentual al modelo, mostrando el mayor efecto positivo sobre la producción de FOS, evidenciando la relevancia de la concentración de sacarosa en el proceso de transfructosilación. Un incremento en los °Brix favorece la disponibilidad de sustrato, promoviendo la síntesis de FOS hasta un punto óptimo, tras el cual se pueden generar inhibiciones por exceso de sustrato.

Tabla 2. Análisis de varianza de la producción de FOS.

Factor	DF	SS	MS	F	p	Porcentaje
pH	2	398778.6	199389.3	3.610482	0.062304	25.78
°Brix	2	492223.9	246112	4.456522	0.03823	31.82
Inóculo	2	48475	24237.5	0.438885	0.655568	3.13
Error	11	607476.3	55225.1			39.27
Total	17	1546953.8				100

Aunque el error experimental representó más del 39%, la contribución de los factores principales indicó efectos reales y significativos de los tratamientos. Este comportamiento puede atribuirse, en parte, a la variabilidad inherente de los procesos fermentativos, donde el crecimiento microbiano, la producción enzimática y la síntesis de metabolitos están influenciados por múltiples factores biológicos difíciles de controlar completamente como la heterogeneidad celular, variaciones metabólicas y diferencias en los microambientes de cultivo (Mu y Zhang 2023). Adicionalmente, el uso de jugo de caña de azúcar fresco como sustrato puede introducir variaciones asociadas a diferencias naturales en su composición química. Otro factor que pudo contribuir al error residual es la metodología de cuantificación empleada, ya que la TLC semicuantitativa depende de la intensidad de las manchas cromatográficas y del análisis digital de imágenes, lo que puede generar una mayor variabilidad en comparación con técnicas cromatográficas de alta resolución. En el gráfico de efectos principales (Figura 2) podemos observar como el pH y el porcentaje de inóculo tienen valores óptimos intermedios, mientras que los °Brix incrementaron la producción de FOS conforme se aumenta la concentración de sacarosa.

La validación experimental bajo las condiciones óptimas predichas (pH 5.5, 23 °Brix, 1% inóculo) arrojó una producción de 2.03 g L⁻¹ de FOS a las 24 h, frente a 1.37 g L⁻¹ estimados por el modelo. La máxima producción (4.2 g L⁻¹) se alcanzó a las 66 h. En contraste, el jugo sin modificar (pH 5.3 y 11 °Brix) produjo 7.44 g L⁻¹ de FOS a las 48 h, lo que sugiere que concentraciones moderadas de sacarosa favorecen la conversión de sacarosa a FOS. Los resultados obtenidos concuerdan con los reportes de Bersaneti *et al.* (2018) y Noidee y Ninchan (2024), quienes utilizaron diferentes cepas de *B. subtilis* para la producción de FOS en medios con sacarosa, obteniendo rendimientos de 18.2% y 75.86 g L⁻¹, respectivamente. En este trabajo, la cepa empleada alcanzó un rendimiento máximo de

10.2%, demostrando un potencial relevante para su aplicación en la bioconversión directa de jugo de caña de azúcar.

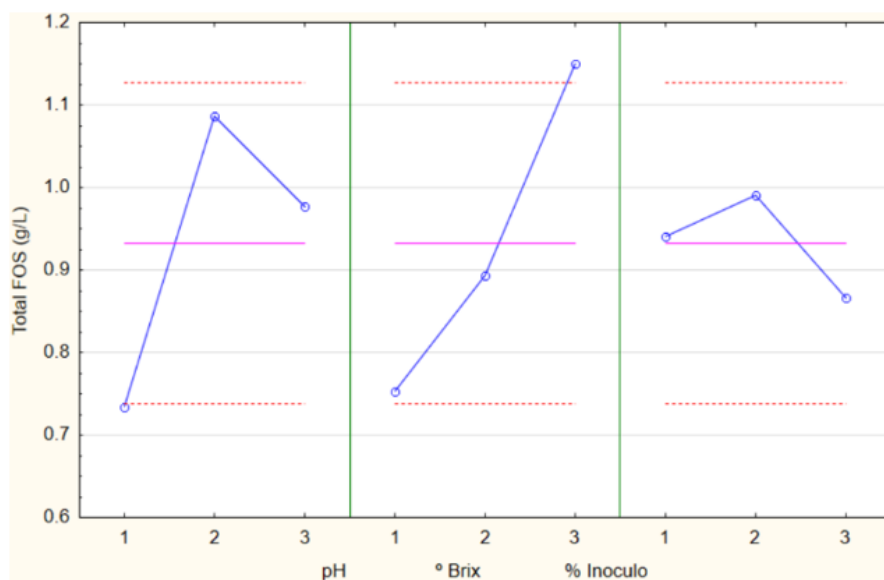


Figura 2. Efectos principales de pH, °Brix e inóculo sobre la producción de FOS estimados mediante el diseño Taguchi.

Por su parte, el pH y el inóculo presentaron valores óptimos intermedios, en concordancia con reportes previos para *Aureobasidium pullulans* (pH 5.5), *Aspergillus ibericus* (pH 6.2) y *Penicillium citronigrum* (pH 5.0) (Nobre *et al.* 2018, Khatun *et al.* 2020). El pH afecta directamente la estabilidad y actividad de las fructosiltransferasas, por lo que el rango óptimo depende de la cepa y del sistema fermentativo. El limitado efecto del pH observado en este estudio puede atribuirse a la capacidad de *B. subtilis* para acidificar el medio hasta pH cercanos a 4.0, debido a la formación de lactato y acetato como principales ácidos orgánicos (Ramos *et al.* 2000; Härtig y Jahn 2012). Este comportamiento es característico de la especie tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas.

El efecto del tamaño del inóculo también fue consistente con lo reportado por Ganaie *et al.* (2017), quienes observaron que un incremento en la densidad celular incrementa la actividad enzimática hasta un punto óptimo, a partir del cual se reduce por competencia de nutrientes. Por ello, el control del inóculo es esencial para maximizar la conversión de sacarosa a FOS.

Perfil de carbohidratos

Las muestras de fermentación se diluyeron 1:8 para FOS, 1:50 para glucosa y fructosa, y 1:100 para sacarosa, de acuerdo con sus concentraciones relativas. Los resultados del perfil de carbohidratos obtenidos por TLC semicuantitativa y caracterización fisicoquímica se presentan en la Tabla 3. Si bien técnicas cromatográficas de alta resolución como UPLC ofrecen una mayor sensibilidad y precisión para la cuantificación de fructooligosacáridos, la metodología basada en TLC semicuantitativa utilizada en este estudio ha mostrado resultados comparables en otros trabajos. Mientras que Martínez-Pérez *et al.* (2025) realizaron la cuantificación de FOS obtenidos por fermentación de jugo de caña de azúcar mediante TLC ($25.00 \pm 2.56 \text{ g L}^{-1}$) presentando valores

cercanos a los determinados mediante UPLC- PDA-ESI-MS/MS ($23.94 \pm 0.20 \text{ g L}^{-1}$), lo que sugiere que la metodología empleada constituye una alternativa confiable para la estimación de FOS en matrices similares. No obstante, la utilización de técnicas cromatográficas de mayor resolución permitiría una caracterización más detallada del perfil de oligosacáridos presentes.

Tabla 3. Perfil de carbohidratos del jugo de caña y propiedades fisicoquímicas.

Parámetro	Jugo de caña de azúcar fresco	Jugo de caña de azúcar fermentado
Glu-Fru (g L^{-1})	36 ± 2.6	58.3 ± 1.5
Sacarosa (g L^{-1})	72.3 ± 1.5	36.7 ± 1.5
FOS (g L^{-1})	0	7.4 ± 0.1
°Brix	10.33 ± 0.58	11.5 ± 0.5
pH	5.3 ± 0.02	4.0 ± 0.1

*Los valores corresponden al contenido de FOS a las 48 h; los valores se expresan como la media $\pm$ SE (n = 3).

El jugo de caña mostró la presencia de sacarosa, glucosa y fructosa (Figura 3), composición similar a la reportada por Bie y Zhu (2016), aunque con ligeras variaciones en concentración atribuibles a diferencias varietales y condiciones de cultivo. La síntesis de FOS se confirmó con la detección de 1-kestosa y nistosa en las placas TLC, producto de la fermentación sumergida con *B. subtilis*.

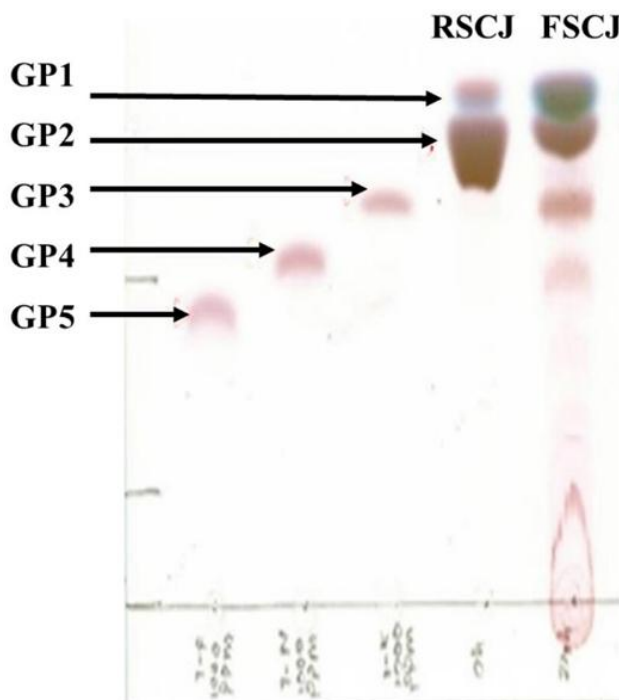


Figura 3. TLC de jugo de caña de azúcar crudo, jugo de caña de azúcar fermentado y estándares de FOS. GP1: glucosa y fructosa, GP2: sacarosa, GP3: 1-kestosa, GP4: nistosa, GP5: fructofuranosilnistosa, RSCJ: jugo de caña de azúcar fermentado y FSCJ: jugo de caña de azúcar fresco.

Los estudios sobre el uso de jugo de caña como sustrato para producir FOS siguen siendo limitados debido a que la mayor parte del jugo de caña es utilizada en la industria azucarera y de biocombustibles. Santos *et al.* (2016) emplearon jugo de caña como sustrato para la producción de FOS, donde, obtuvieron un rendimiento de 97.93 g L⁻¹ de nistosa utilizando *B. subtilis* natto CCT 7712; Hajar-Azhari *et al.* (2020) lograron 32.22 g FOS/100 g sacarosa empleando una mezcla de enzimas comercial Viscozyme® L y jugo de caña de azúcar concentrado como sustrato; y Noidee y Ninchan (2024) reportaron rendimientos de 72.96 g L⁻¹ en condiciones optimizadas de la fermentación de jugo de caña de azúcar con *B. subtilis* TISTR 001. Por otro lado, *A. oryzae* DIA-ITDAM produjo 23.94 g L⁻¹ de FOS en la fermentación de jugo de caña de azúcar a las 48 horas (Martínez-Pérez *et al.* 2025). Aunque la producción de FOS alcanzada fue menor que la reportada en sistemas optimizados basados en enzimas purificadas o microorganismos especializados, los resultados demuestran la viabilidad de emplear jugo de caña de azúcar fresco como materia prima directa para la síntesis de estos compuestos. Este enfoque reduce la necesidad de pretratamientos destinados a incrementar la concentración de sacarosa y evita los costos asociados a la obtención y utilización de enzimas purificadas. Además, *B. subtilis* es un microorganismo con amplio historial de uso en aplicaciones alimentarias y reconocido como generalmente seguro (GRAS), característica que representa una ventaja adicional para una eventual aplicación industrial (Noidee y Ninchan 2024).

En las condiciones evaluadas, se alcanzó una producción máxima de 7.44 g L⁻¹ de FOS después de 48 h de fermentación utilizando jugo fresco bajo sus condiciones nativas de pH y sólidos solubles. Estos resultados evidencian el potencial del jugo de caña como sustrato para la obtención de carbohidratos prebióticos y sugieren que su fermentación podría constituir una alternativa para el desarrollo de ingredientes o bebidas funcionales con valor agregado.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación contó con el apoyo de los proyectos "Elaboración de una bebida funcional a base de jugo de caña enriquecida con probióticos y prebióticos" (6153.19-P) y "Producción y purificación de carbohidratos prebióticos a partir de subproductos agroindustriales de bajo costo".

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no tienen intereses en competencia.

LITERATURA CITADA

Anderson K, Li S-C, Li Y-T (2000) Diphenylamine–Aniline–Phosphoric Acid Reagent, a Versatile Spray Reagent for Revealing Glycoconjugates on Thin-Layer Chromatography Plates. *Analytical Biochemistry* 287(2): 337-339. <https://doi.org/10.1006/abio.2000.4829>

- Arif S, Batool A, Nazir W, Khan RS, Khalid N (2019) Physiochemical Characteristics Nutritional Properties and Health Benefits of Sugarcane Juice. In: Grumezescu AM, Holban AM (eds) Non-Alcoholic Beverages. Elsevier. pp. 227-257. <https://10.1016/B978-0-12-815270-6.00008-6>
- Bersaneti GT, Pan NC, Baldo C, Celligoi MAPC (2018) Co-production of Fructooligosaccharides and Levan by Levansucrase from *Bacillus subtilis* natto with Potential Application in the Food Industry. Applied Biochemistry and Biotechnology 184(3): 838-851. <https://10.1007/s12010-017-2587-0>
- Bie X-Y, Zhu M-J (2016) Sucrose biotransformation by immobilized *Phaffia rhodozyma* and continuous neokestose production in a packed-bed reactor. Biocatalysis and Biotransformation 34(3): 89-98. <https://10.1080/10242422.2016.1247813>
- Dominguez AL, Rodrigues LR, Lima NM, Teixeira JA (2014) An Overview of the Recent Developments on Fructooligosaccharide Production and Applications. Food and Bioprocess Technology 7(2): 324-337. <https://10.1007/s11947-013-1221-6>
- Fernandes P (2025) Fructooligosaccharides (FOSs): A condensed overview. Compounds 5(2): 8. <https://doi.org/10.3390/compounds5020008>
- Ganaie MA, Soni H, Naikoo GA, Santos Oliveira LT, Rawat HK, Mehta PK, Narain N (2017) Screening of low cost agricultural wastes to maximize the fructosyltransferase production and its applicability in generation of fructooligosaccharides by solid state fermentation. International Biodeterioration and Biodegradation 118: 19-26. <https://10.1016/j.ibiod.2017.01.006>
- Gómez-Merino FC, Trejo-Téllez LI, Salazar-Ortiz J, Pérez-Sato JA, Senties-Herrera, H.E., Bello-Bello JJ, Aguilar-Rivera N (2017) La diversificación de la agroindustria azucarera como estrategia para México. Agroproductividad 10(11): 7-12.
- Hajar-Azhari S, Rahim MHA, Wan-Mohtar WAAQI, Sarbini SR, Saari N (2020) Novel fructooligosaccharide conversion from sugarcane syrup using a specialised enzymatic pH-stat bioreactor. Process Biochemistry 95: 55-63. <https://10.1016/j.procbio.2020.04.031>.
- Härtig E, Jahn D (2012) Regulation of the Anaerobic Metabolism in *Bacillus subtilis*. In: Poole, RK (ed) Advances in Microbial Physiology 61: 195-216. <https://10.1016/B978-0-12-394423-8.00005-6>.
- Kanaya KI, Chiba S, Shimomura T (1978) Thin-layer chromatography of linear oligosaccharides. Agricultural and Biological Chemistry 42(10): 1947-1948. <https://10.1080/00021369.1978.10863283>.
- Khatun MS, Harrison MD, Speight RE, O'Hara IM, Zhang Z (2020) Efficient production of fructooligosaccharides from sucrose and molasses by a novel *Aureobasidium pullulan* strain. Biochemical Engineering Journal 163: 107747. <https://10.1016/j.bej.2020.107747>.
- De-la-Rosa O, Pérez AM, Paz JEW, Muñoz-Márquez DB, Flores-Gallegos AC, Aguilar CN (2023) Microbial Production of Fructooligosaccharides. In: Jafari SM, Harzevili FD, Karaca AC (eds) Microbial Production of Food Bioactive Compounds. Springer, Cham, Suiza. pp. 1-27. https://10.1007/978-3-030-81403-8_5-1
- Laksameethanasan P, Somla N, Janprem S, Phochuen N (2012) Clarification of sugarcane juice for syrup production. Procedia Engineering 32: 141-147. <https://10.1016/j.proeng.2012.01.1248>
- Maiorano AE, Piccoli RM, Da Silva ES, De Andrade Rodrigues MF (2008) Microbial production of fructosyltransferases for synthesis of pre-biotics. Biotechnology Letters 30(11): 1867-1877. <https://10.1007/s10529-008-9793-3>.
- Martínez-Pérez A, Mares-Rodríguez FDJ, Muñoz-Márquez DB, Marroquín Cardona AG, González-Herrera SM, Rutiaga-Quinones OM (2025) Biotechnological Potential for Fructooligosaccharides Production and Molecular Characterization of *Aspergillus oryzae* DIA-ITDAM. Food Biotechnology 39(1): 94-114. <https://10.1080/08905436.2025.2458787>.
- Martínez-Pérez A, Wong-Paz JE, González-Herrera SM, Bermúdez-Humarán L, Rutiaga-Quinones OM (2024) Non-dairy prebiotic, probiotic, and synbiotic beverages. In: Chávez ML, Buenrostro JJ, Aguilar

- CN (eds) Enzymatic Processes for Food Valorization. Academic press. pp. 173-189. <https://10.1016/B978-0-323-95996-4.00012-5>.
- Mu X, Zhang F (2023). Diverse mechanisms of bioproduction heterogeneity in fermentation and their control strategies. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 50: kuad033. <https://doi.org/10.1093/jimb/kuad033>
- Muñiz-Marquez D, Martinez-Cervantes MA, Martinez-Perez A, Aguilar C, Aguilar-Zarate P, Wong-Paz JE (2022) A simple quantitative method using TLC-image analysis to determine fructooligosaccharides (FOS) in food samples. Turkish Journal of Chemistry 46(4): 1297-1305. <https://10.55730/1300-0527.3436>.
- Nishad J, Selvan CJ, Mir SA, Bosco SJD (2017) Effect of spray drying on physical properties of sugarcane juice powder (*Saccharum officinarum* L.). Journal of Food Science and Technology 54(3): 687-697. <https://10.1007/s13197-017-2507-x>.
- Nobre C, Alves Filho EG, Fernandes FAN, Brito ES, Rodrigues S, Teixeira JA, Rodrigues LR (2018) Production of fructo-oligosaccharides by *Aspergillus ibericus* and their chemical characterization. LWT 89: 58-64. <https://10.1016/j.lwt.2017.10.015>.
- Noidee C, Ninchan B (2024) Investigation of Optimized Microbial Oligofructans Production by *Bacillus subtilis* TISTR 001 Using Response Surface Methodology. Sugar Tech 26(2): 585-594. <https://10.1007/S12355-024-01366-4/TABLES/4>.
- Ogando FIB, Aguiar CL de, Viotto JVN, Heredia FJ, Hernanz D (2019) Removal of phenolic, turbidity and color in sugarcane juice by electrocoagulation as a sulfur-free process. Food Research International 122: 643-652. <https://10.1016/j.foodres.2019.01.039>.
- Ramos HC, Hoffmann T, Marino M, Nedjari H, Presecan-Siedel E, Dreesen O, Glaser P, Jahn D (2000) Fermentative metabolism of *Bacillus subtilis*: Physiology and regulation of gene expression. Journal of Bacteriology 182(11): 3072-3080. <https://10.1128/JB.182.11.3072-3080.2000/FORMAT/EPUB>.
- Santos DA dos, Baldo C, Borsato D, Celligoi MAPC (2016) Utilization of low-cost substrates for the production of nystose by *Bacillus subtilis* natto cct 7712. Acta Scientiarum. Technology 38(4): 391. <https://10.4025/actascitechnol.v38i4.28704>
- Singh SP, Jadaun JS, Narnoliya LK, Pandey A (2017) Prebiotic oligosaccharides: Special focus on fructooligosaccharides, its biosynthesis and bioactivity. Applied Biochemistry and Biotechnology 183(2): 613-635. <https://10.1007/s12010-017-2605-2>.
- Subramaniam R, Vimala R (2012) Solid state and submerged fermentation for the production of bioactive substances: a comparative study. International Journal of Science and Nature 3(3): 480-486.