



## **AISLAMIENTO DE NUEVOS POLISACÁRIDOS EXTRACELULARES PRODUCIDOS POR BACTERIAS LÁCTICAS AISLADAS DEL PULQUE.**

Rodrigo Conca<sup>1</sup>, Martha Giles-Gómez<sup>1</sup>, María Elena Rodríguez<sup>2</sup>, María Soledad Córdova<sup>2</sup>, Agustín López-Munguía<sup>2</sup>, Guillermo Gosset<sup>2</sup>, Francisco Bolívar<sup>2</sup> y Adelfo Escalante<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Biología, Facultad de Química. UNAM. Edificio A, Fac. Química. Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510. México D. F. <sup>2</sup>Departamento de Ingeniería Celular y Biotecnología. Instituto de Biotecnología, UNAM. Av. Universidad 2001. Col. Chamilpa. Cuernavaca, Morelos. 62210.

[\\*adelfo@ibt.unam.mx](mailto:adelfo@ibt.unam.mx)

Palabras clave: polisacáridos extracelulares, *Leuconostoc citreum*, pulque

**Introducción.** El pulque es una bebida fermentada alcohólica tradicional elaborada a partir del aguamiel (savia), extraído de varias especies de maguey. Una característica distintiva de esta bebida es la producción de polisacáridos extracelulares (EPS), lo que le confiere una viscosidad típica. Diversos reportes señalan a la bacteria láctica (LAB) *Leuconostoc mesenteroides*, como responsable de la producción de EPS de tipo dextrana a partir de la sacarosa presente en el aguamiel (1). Estudios previos de la fermentación del pulque mediante un enfoque polifásico permitió detectar la presencia de un EPS de tipo fructana en esta bebida (2).

Con base en esta información el presente trabajo tiene como finalidad la búsqueda y caracterización de nuevos EPS producidos por LAB aisladas de muestras de aguamiel y pulque.

**Metodología.** El aislamiento de LAB productoras de EPS se realizó en agar APT/sacarosa 10% a partir de muestras de aguamiel y durante la fermentación de pulque en condiciones de laboratorio. A partir del aislamiento de 100 colonias productoras de EPS, se identificaron dos tipos únicos de EPS, designados como EPS A y EPS B. Cada colonia productora fue purificada y conservada en congelación a -70° C. Para cada EPS se realizaron las siguientes determinaciones: tipo de monómero que lo conforma por hidrólisis enzimática y análisis de componentes por HPLC; peso molecular (PM) por HPLC, comportamiento reológico, análisis por RMN, microscopía electrónica de barrido (MEB) de cultivos en medio líquido e identificación de un fragmento del gen que codifica para el dominio catalítico de la glicosiltransferasa involucrada en la síntesis de cada EPS. La identificación de ambas cepas productoras de EPS se realizó por análisis de secuencias de ADNr 16S.

**Resultados y discusión.** La hidrólisis enzimática de ambos EPS mostró que están constituidos por residuos de glucosa. La determinación del PM por HPLC indicó un PM de 695.2 kDa para el EPS A y de 583.6 kDa para el EPS B, respectivamente. El análisis reológico de ambos EPS mostró un comportamiento de fluido no newtoniano (pseudoplástico), aunque el EPS A presentó una fuerza

de deformación mayor al EPS B, lo que indicó una mayor viscosidad para el EPS A. Durante la separación de ambos polímeros a partir de cultivos en medio líquido se determinó que el EPS A se encuentra asociado a pared celular, situación que dificultó su posterior análisis. El análisis del EPS B por RNM, indicó la presencia de un alto grado de ramificación, mientras que el análisis por MEB de ambos cultivos mostró una organización celular distinta para ambas cepas, determinada muy probablemente cada EPS. Ambas cepas fueron identificadas como *Leuconostoc citreum*. El análisis de la secuencia parcial del dominio catalítico permitió identificar al gen y a la proteína como una glicosiltransferasa de *L. citreum* (98% de similitud), mientras que el EPS B no mostró similitud significativa con ninguna glicosiltransferasa depositada en la base de datos no redundante del NCBI.

**Conclusiones.** En este trabajo se aislaron dos cepas de *Leuconostoc citreum* productoras de dos EPS de tipo glucana a partir del pulque. Ambos polisacáridos presentan propiedades fisicoquímicas distintas. El análisis de un fragmento del gen que cataliza el dominio catalítico de la enzima mostró para el EPS A, se trata de una glicosiltransferasa/dextranasa, mientras que el EPSB, no presenta similitud significativa con alguna otra glicosiltransferasa.

**Agradecimientos.** Este proyecto contó con el apoyo económico de CONACYT P46052-2.

### **Bibliografía.**

- Chellapandian, M, Larios, C, Sánchez-González, M, y López-Munguía, A. (1988). Production and properties of a dextranucrase from *Leuconostoc mesenteroides* IBT-PQ isolated from 'pulque', a traditional Aztec alcoholic beverage. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 21: 51-56.
- Escalante, A, Giles-Gómez, M, Hernández, G, Córdova-Aguilar, M, S, López-Munguía, A, Gosset, G, y Bolívar, F. (2008). Analysis of bacterial community during the fermentation of pulque, a traditional Mexican alcoholic beverage, using a polyphasic approach. *Int. J. Food Microbiol.* 124: 126-134.