



SELECCIÓN DE LEVADURAS NATIVAS DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE *Agave duranguensis* PARA LA FORMULACIÓN DE UN INOCULANTE

Martha Nuñez-Guerrero, Miriam Rutiaga-Quiñones, Araceli Ochoa-Martínez, Oscar Soto-Cruz*
División de Estudios de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Durango. Felipe Pescador 1830
Ote., 34080, Durango, Dgo., México. Fax (618) 8186936 Ext. 107 soto@itdposgrado-bioquimica.com.mx.

Palabras claves: *levaduras*, *mezcal*, *fenotipo killer*.

Introducción. Las levaduras presentes en una fermentación son las responsables de la producción de etanol, alcoholes superiores, enzimas extracelulares, ésteres y otros compuestos que proporcionan características a la bebida (1). La selección de cepas se basa en pruebas para determinar fenotipo killer, capacidad de producción de etanol y otros compuestos, así como en la tolerancia a productos que se acumulan, como el mismo etanol y ácidos orgánicos (2).

El objetivo del presente trabajo fue seleccionar las mejores levaduras nativas tomando como criterios de selección su cinética de fermentación, tolerancia al etanol y fenotipo *killer*.

Metodología. Se utilizaron nueve cepas nativas de los géneros *Saccharomyces* (3), *Candida* (2), *Pichia* (2), *Torulaspota* (1) y *Kluyveromyces* (1). La capacidad fermentativa se realizó mediante fermentaciones con mosto de agave filtrado a 28°C por 72 h. Se determinó la concentración de glucosa, fructosa, etanol y ácido acético por HPLC. La tolerancia al etanol se determinó con fermentaciones similares, en un medio con un 8% de etanol. El fenotipo *killer* se determinó siguiendo una técnica ya descrita (3), usando una cepa *killer* positiva de referencia (CECT1893) y una *killer* sensible (CECT1407).

Resultados y discusión La Tabla 1 muestra que las cepas de los géneros *Saccharomyces* y *Candida* presentaron los mejores resultados en cuanto al consumo de azúcares, producción de biomasa, producción de etanol y rendimiento. Por otra parte, en la evaluación a la tolerancia al etanol solo una cepa de *S. cerevisiae* y la cepa de *Candida colliculosa* presentaron tolerancia al etanol en una concentración del 8%, ya que fueron capaces de consumir los carbohidratos, crecer y producir etanol. En la determinación del fenotipo *killer* se encontraron tres cepas de *S. cerevisiae*, una de *C. kefir*, una de *C. colliculosa* y una de *T. delbrueckii* sensibles a la cepa *killer* positiva control. Cinco cepas (dos *P. kluyveri*, una *C. kefir*, una *C. colliculosa* y una *T. delbrueckii*) lograron inhibir a la cepa *killer* sensible control. La cepa de *K. marxianus* resultó ser *killer* neutra. Los ensayos de inhibición cruzada mostraron que *P. kluyveri* inhibió a todas las cepas nativas. Las cepas seleccionadas fueron *S. cerevisiae* y *C. colliculosa*, por su capacidad fermentativa y tolerancia al etanol, así como *K. marxianus*, por ser *killer* neutra. En su conjunto, las cepas seleccionadas presentan características deseables para formular un inoculante con potencial de

uso en la producción de mezcal. Es importante considerar la inclusión de cepas no-*Saccharomyces* en un inoculante, debido a que son reconocidas por producir compuestos que aportan sabores y aromas (4)

Tabla 1 Capacidad fermentativa y tolerancia al etanol de levaduras nativas de la fermentación alcohólica de *Agave duranguensis*

Cepas	Rendimiento	Tolerancia al etanol	
	g EtOH/g azúcares	Crecimiento	Producción de Etanol
<i>S. cerevisiae</i>	0.440	+	+
<i>S. cerevisiae</i>	0.385	--	--
<i>S. cerevisiae</i>	0.537	--	--
<i>C. kefir</i>	0.394	--	--
<i>C. colliculosa</i>	0.468	+	+
<i>T. delbrueckii</i>	0.412	--	--
<i>K. marxianus</i>	0.477	--	--
<i>P. kluyveri</i>	0.068	--	--
<i>P. kluyveri</i>	0.045	--	--

Conclusiones Las levaduras nativas seleccionadas para la formulación de un inoculante fueron *S. cerevisiae*, *C. colliculosa* y *K. Marxianus*, debido a sus características de capacidad fermentativa, tolerancia al etanol y fenotipo *killer*.

Agradecimientos FOMIX-Durango (Proyecto DGO-2007-CO1-67924). CONACYT-becaria (208522).

Bibliografía.

- (1) Pinal L., Cedeño H., Gutiérrez H. and Alvarez – Jacobs J. (1997). Fermentation parameters influencing higher alcohol production in the tequila process, *Biotechnol. Letters*, Vol 19 (1): 45-47
- (2) Torija M. (2002). Ecología de Levaduras: Selección y adaptación a Fermentaciones vínicas. Memoria para optar el grado de Doctorado en Bioquímica. Universitat Rovira I Virgili. Departament de Bioquímica I Biotecnologia, Facultat D'enologia. Tarragona. Pag. 5-7.
- (3) Rodríguez L.A., Abad D., Gómez J., Casanova J.B., Lema C.; Fenotipo *killer*: (1998); Distribución en la comarca Ribiera Sacra en las poblaciones de *Saccharomyces cerevisiae*; *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. Vol. 2 (1): 33-37.
- (4) Esteve Zarzoso B., Querol A. (1998). The role of Non-Saccharomyces yeast in industrial winemaking. *Internat. Microbiol.* Vol 1 (1):143-148.