



TOLERANCIA AL ESTRÉS Y PROPIEDADES CINÉTICO-MOLECULARES DE LA COLECCIÓN LBI-CBG DE LEVADURAS DEL MEZCAL TAMAULIPECO.

Claudia Patricia Larralde Corona, José A. Narváez Zapata. Instituto Politécnico Nacional – Centro de Biotecnología Genómica (Laboratorio de Biotecnología Industrial, Reynosa (Tamaulipas) México, C.P. 88710, E-mail: plarralde@ipn.mx.

Palabras clave: Mezcal, levaduras, estrés, fermentación, azúcares, enzimas.

La fermentación alcohólica impone una gran cantidad de condiciones estresantes a las levaduras, sin embargo, de todos ellos los más importantes por su magnitud son los causados por la presión osmótica y la presencia de etanol en el medio (Carrasco *et al.*, 2001). En el Laboratorio de Biotecnología Industrial (CBG-IPN) se cuenta con una colección de más de 70 levaduras, *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces*, que fueron originalmente aisladas de mostos de agave en diferentes etapas de la fermentación del mezcal tamaulipeco, y que estamos caracterizando en cuanto a sus propiedades de tolerancia al estrés, capacidad de utilización de hexosas, productividad en mostos sintéticos y reales tipo agave y uva, así como hemos comenzado a explorar su capacidad de floculación y su uso tanto como productores de enzimas como en formulaciones de inoculantes mixtos para otorgar a los productos fermentados propiedades organolépticas específicas. Dado que el primer paso en la caracterización consiste en conocer sus límites de tolerancia al crecer, en este trabajo se explora la respuesta a diferentes tipos de estrés de toda la colección, como una manera de clasificarlas y elegir aquellas con desempeños fermentativos sobresalientes y/o complementarios.

Con respecto a la utilización de azúcares fermentables, la glucosa y la fructosa son las principales hexosas de prácticamente todos los mostos, y encontrándose por ejemplo en cantidades equimolares en el jugo de uva, pero variando fuertemente en otros mostos, en los cuales la concentración típica inicial de azúcares varía entre 100 a 250 g/l, y siendo la menor fermentabilidad de la fructosa el primer obstáculo con el que se topan las levaduras al ser inoculadas. Es por ello que desde el punto de vista tecnológico, las levaduras que han sido aisladas de fermentaciones que naturalmente contienen una alta concentración de fructosa, tal y como es el caso de los mostos de agave, que contienen hasta un 90% de ésta azúcar, son de gran interés ya que generalmente se encuentran ya adaptadas a la presencia de una alta concentración de esta hexosa (Oliva-Hernández *et al.*, 2013) además de otras moléculas inhibitorias tales como compuestos de Maillard, furfural y saponinas tóxicas (De León-Rodríguez *et al.*, 2006) dependiendo de la especie de agave, todo lo cual hace a éste proceso una rica fuente para la búsqueda y aislamiento de levaduras, especialmente aquellas que se pretenden usar en procesos industriales, tales como la producción de vino, en los cuales los paros de fermentación se sabe están relacionados a una alta concentración residual de fructosa, que no puede ser consumida generalmente por las cepas vinícolas comerciales, que son altamente glucofílicas. El segundo estrés principal con el que se enfrentan las levaduras son las concentraciones crecientes de etanol durante la fermentación, ya que se conoce bien su efecto como inhibidor del crecimiento microbiano, y han sido ampliamente reportados los efectos tóxicos del etanol que incluyen pérdida de la viabilidad e inhibición tanto del crecimiento como de los sistemas de transporte tales como las permeasas de aminoácidos y de transporte de glucosa (Lewis *et al.*, 2010). En resumen, la combinación de estos dos estreses principales contribuye de manera principal a los problemas en la productividad de las fermentaciones. Es por ello que, el que una levadura tenga una alta tolerancia al etanol es un prerrequisito para poder tener una alta productividad durante la fermentación, por lo cual fue una de las primeras características que fueron investigadas en la colección LBI-CBG.

Se desarrolló una metodología de cuenta de colonias en gota para caracterizar de manera eficiente y rápida a la colección, y debido a que se observó un mayor efecto inhibitorio del etanol cuando la fructosa estaba presente, procedimos a caracterizar inicialmente la tolerancia a esta hexosa, la cual resultó ser aprox. 750 g/l para las dos cepas *S. cerevisiae* más tolerantes (3Y4 y 3Y8) la cual fue mayor que la reportada por Arroyo-López *et al.* (2009) en medio líquido, que fue de 640 g/l. La tolerancia máxima al etanol en presencia de glucosa fue de 15 % v/v, para cepas de *S. cerevisiae*, pero cuando era usada la fructosa, tanto las cepas de *Saccharomyces* como de no-*Saccharomyces* no fueron capaces de crecer a más de 9% v/v de etanol, afectando esta hexosa de manera importante la capacidad de tolerancia al etanol. Con toda la información generada se propone un sistema de selección de cepas utilizando sus niveles de tolerancia al estrés por etanol y a la presencia de fructosa.

1. Arroyo-López FN, Querol A, Barrio E. (2009). *J Ind Microbiol Biotechnol* 36, 663-669.

2. Carrasco P, Querol A, Del Olmo M. (2001). *Archives Microbiol* 175, 450-457.

3. De León-Rodríguez A, González-Hernández L, Barba de la Rosa A.P, Escalante Minakata P, López GM. (2006). *J Agricultural Food Chem* 54,1337-1341

4. Lewis JA, Elkon IM, McGee MA, Higbee AJ, Gasch AP. (2010). *Genetics* 186,1197-1205.

6. Oliva Hernández AA, Taillandier P, Reséndez Pérez D, Narváez Zapata JA, Larralde Corona CP. (2013). *Antonie van Leeuwenhoek J Microbiol* 103(4):833-843.