



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## IDENTIFICACION DE LEVADURAS AISLADAS DE TEPACHE CASERO Y COMERCIAL

Elda Mireya Rodríguez-González, Carlos Vladimir Muro-Medina, Armando Arias

Laboratorio de Biotecnología, Centro Universitario de Ciencias Biológico Agropecuarias, Universidad de Guadalajara.  
Zapopan, Jalisco. 45100. mireya\_3235@hotmail.com

*Palabras clave: tepache, levaduras, identificación molecular*

**Introducción.** La fermentación de frutos, tubérculos o cereales para la obtención de bebidas es una práctica muy antigua aun presente en todas las culturas del mundo. En México no es la excepción, ya que cuenta con una gran variedad de bebidas tradicionales, entre las que destaca el tepache. Este es una bebida refrescante elaborada a base de piña y piloncillo. Sin embargo, el interés por obtener un producto higiénico y de buena calidad, se ha visto frenado por la heterogeneidad de cepas utilizadas en su elaboración, ya que la calidad del producto no es constante, obstaculizando así la expansión del productor rural interesado en ampliar su mercado.

El objetivo del presente trabajo fue comparar, mediante técnicas moleculares, las cepas de levaduras asociadas a dos fermentaciones de tepache, una de forma casera y artesanal y otra a nivel comercial.

**Metodología.** En total se aislaron 104 cepas de levaduras, 72 de una muestra de tepache casero con un tiempo de fermentación de 36 horas y 32 de una fermentación de tepache comercial. Para la identificación de las especies de levaduras se siguió la metodología propuesta previamente por Esteve-Zarzoso y cols. (1) y se obtuvieron los patrones de restricción de cada cepa mediante RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms). Para ello, se realizó la extracción de DNA de las 102 cepas de levaduras aisladas de las muestra de tepache. Se amplificó la región génica ribosomal 5.8S-ITS por PCR. Con los productos de PCR se realizó una digestión utilizando 3 enzimas (*Hha* I, *Hae* III y *Hinf* I) y mediante un gel de agarosa al 3% se separaron los fragmentos de restricción. Con esto se obtuvieron los diferentes patrones de restricción para cada cepa y posteriormente se compararon con los de la base de datos (<http://www.yeast-id.com/>) para identificar las cepas de levaduras aisladas en el tepache.

**Resultados.** Se aislaron en total 104 cepas de levaduras en una muestra de tepache casero después de 36 horas de fermentación y otra muestra correspondiente a una fermentación comercial. El producto de PCR para las cepas aisladas del tepache casero fue de 750 pb. Los fragmentos de restricción obtenidos fueron los siguientes: 320+310+105 con la enzima de restricción *Hha* I, 750 con *Hae* III y 350+200+180 con *Hinf* I. Con base en estos patrones de restricción y en la comparación con los

depositados en la base datos se determinó que corresponden a *Hanseniaspora*. Con estos resultados se determinó que es la levadura predominante con más del 95% de las cepas aisladas. Las cepas aisladas del tepache comercial presentaron un producto de PCR de 850 pb. Los fragmentos de restricción obtenidos fueron: 380+320+130 con la enzima de restricción *Hha* I, 325+230+170+125 con *Hae* III y 380+360+120 con *Hinf* I. Esto patrones de restricción indican que pertenecen al género *Saccharomyces*. Asimismo se determinó que este género predomina en el tepache comercial con el 100% de las cepas aisladas. Al comparar las levaduras en las dos fermentaciones se determinó que están presentes especies de levaduras diferentes, lo que indica que probablemente en la fermentación comercial se utiliza una cepa comercial o silvestre de *Saccharomyces* como inóculo, mientras que en la fermentación casera se encontró a la levadura *Hanseniaspora*, tal como se encontró en fermentaciones de piña en Tailandia y Australia (2).

**Tabla1.** Producto de PCR y patrones de restricción de las levaduras aisladas en tepache casero y comercial.

Especie levadura	de AP (pb)	<i>Hha</i> I	<i>Hae</i> III	<i>Hinf</i> I
<i>Hanseniaspora</i> <sup>a</sup>	750	320+310+105	750	350+200+180
<i>Saccharomyces</i> <sup>b</sup>	850	380+320+130	325+230+170+125	380+360+120

Levaduras de tepache casero<sup>a</sup> y comercial<sup>b</sup>

**Conclusiones.** Se determinó que levaduras del género *Saccharomyces* participan en la fermentación comercial de la piña para la producción de tepache. Por otro lado, se determinó que *Hanseniaspora* es el género predominante en el tepache artesanal.

### Bibliografía.

1. Esteve-Zarzoso B., C. Belloch, F. Uruburu y A. Querol. 1999. Int. J. Syst Bacterial 49:329-337.
2. Chanprasartsuk O., C. Prakitchaiwattana. R. Sanguandeeukul y G. Fleet (2010). *Bioresour. Technol.* 101:7500-7509.