

IDENTIFICACION DE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* EN EL MOSTO DEL QUE SE DESTILA EL MEZCAL DE OAXACA, MEXICO

Por Miguel Ulloa*,
Enrique Sánchez-Posada**
y Teófilo Herrera*

IDENTIFICATION OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* IN THE WORT FROM WHICH THE MEZCAL OF OAXACA (MEXICO) IS DISTILLED

SUMMARY

With the purpose of identifying the yeasts involved in the fermentation of the wort prepared for distilling the alcoholic beverage commonly known as "mezcal", a zymological study was conducted of this wort. The yeast isolated and identified corresponded to the species *Saccharomyces cerevisiae* and its morphological and physiological characteristics are described in this paper. The isolation was carried out on V8 medium from wort prepared from the mezcal agaves *Agave elongata* and *A. tequilana*, at a "mezcalería" (mezcal factory) in the municipality of San Juan de la Jarcía, Oaxaca, Mexico.

Apparently, this is the first report of the yeast involved in the fermentation of the substrate used to prepare mezcal, about which some information is given concerning its preparation.

RESUMEN

Con el objeto de conocer las levaduras involucradas en la fermentación del mosto que se elabora para destilar la bebida alcohólica conocida comúnmente con el nombre de mezcal, se hizo un estudio zimológico de dicho mosto. La levadura aislada e identificada de éste correspondió a la especie *Saccharomyces cerevisiae* y en el presente trabajo se describen sus características morfológicas y fisiológicas. El aislamiento se hizo en me-

* Laboratorio de Micología, Departamento de Botánica, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México 04510, D. F.

** Escuela Nacional de Medicina Homeopática, Instituto Politécnico Nacional, México 07320, D. F.

dio de V8 agar, a partir del mosto preparado con los magueyes mezcaleros *Agave elongata* y *A. tequilana*, en una mezcalería del municipio de San Juan de la Jarca, Oaxaca, México. Al parecer, este es el primer registro de la levadura que interviene en la fermentación del sustrato que sirve para preparar el mezcal, producto sobre el que se presentan, además, algunos datos acerca de su elaboración.

INTRODUCCION

Según Robelo (1904) y Cabrera (1974), la palabra mezcal, que también se escribe mescal y mexcal, deriva del náhuatl *mexcalli*; de *metl*, maguey y *xcalli*, aféresis de *ixcalli*, cocido, hervido o cocimiento, de *ixcalhuia*, cocer algo; cocimiento de maguey o maguey cocido o hervido. El primer autor mencionado indica que "los indios llamaban mexcal a las cabezas asadas de pencas de cierto maguey, que son dulces, y todavía hoy se venden en los mercados. Hoy se da el nombre de mexcal al aguardiente que por destilación alambicada se saca del jugo de las pencas asadas".

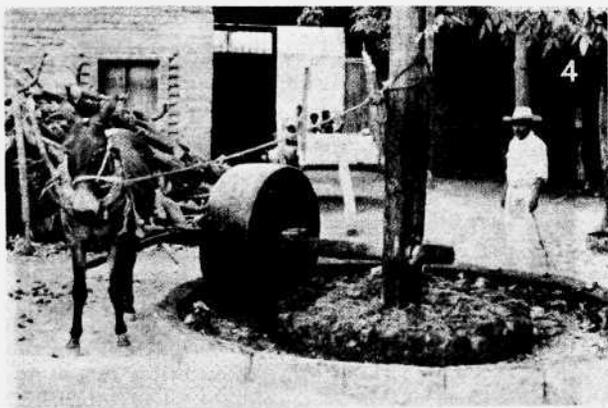
El mezcal es una bebida alcohólica, muy popular en México, elaborada principalmente en los estados de Oaxaca y Guerrero, obtenida por destilación del mosto fermentado que se prepara con los magueyes mezcaleros *Agave elongata* Jacobi (*A. spectabilis* Tod.) y *A. tequilana* Web., conocidos con los nombres comunes de espadín o maguey espadín, y el segundo, también, con los nombres de maguey azul, maguey de castilla y maguey tequilero.

El mosto de mezcal de donde se aisló la levadura que se describe en el presente estudio se prepara, de una manera que puede considerarse rústica (Figs. 1-6), en la siguiente forma: a los magueyes se les cortan las pencas, y las cabezas, piñas o metzontes que quedan son apiladas dentro de un hoyo en la tierra, de diámetro y profundidad variables, generalmente de unos 6 a 8 metros de diámetro y unos 2 metros de profundidad. Las piñas, junto con leña como combustible, son cubiertas con piedras y tierra antes de prenderles fuego. Algunas veces el hoyo es recubierto con piedras, las cuales son calentadas completamente prendiendo leña sobre ellas; las piñas son entonces puestas encima para también ser incendiadas y cubiertas con piedras y tierra durante unas 6 a 8 horas (en ocasiones hasta 1 a 3 días), tiempo en el que se logra un cocimiento lento que provoca cambios especiales en las piñas, como son el ablandamiento y la adquisición de un sabor dulce. Las piñas asadas pueden ser consumidas directamente o, en el caso al que se refiere este trabajo, son machacadas, primero en forma manual con mazos de madera y después en una noria en la que una piedra movida por una mula gira sobre el material de la molienda hasta obtener una pasta tosca que al ser suspendida y disuelta en agua constituye el mosto que se coloca en barriles o cubas para que fermente, de manera espontánea, durante un lapso de 1 a 3 días. Después de la fermentación del mosto, éste se somete a un proceso de destilación fraccionada en un alambique para obtener el mezcal. Nelson (1902) describe el proceso de cocimiento de las bases o cabezas del maguey de mezcal para la obtención del dulce también llamado mezcal, pero no menciona los procesos de fermentación y destilación del mosto ya mencionado.

El proceso de elaboración del mezcal es muy antiguo, pues probablemente se inició poco después de la época de la Conquista Española en que fueron introducidos los alambiques que permitieron obtener bebidas alcohólicas destiladas. El mosto de mezcal que se utilizó en el presente estudio fue obtenido de una mezcalería o palenque situada



Figuras 1-6. Etapas del proceso de elaboración del mezcal en una mezcalera típica (Mitla, Oaxaca; excepto la figura 6 que es de Tlacolula, Oaxaca). 1: cabezas de magueyes mezcaleros listas para ser colocadas en el horno preparado en una hoquedad en el suelo. 2: horno cubierto por un montículo de tierra, el cual contiene las cabezas de los magueyes. 3: trituración manual, usando un mazo de madera, de las cabezas cocidas. 4: molienda en una noria del material triturado. 5: cubas de madera que contienen el mosto de mezcal en fermentación. 6: destilación del mezcal en ollas de barro.



en el Municipio de San Juan de la Jarca, Distrito de San Carlos Yautepec, cercana a los poblados de Minas y Río Hondito, del estado de Oaxaca, en donde se elabora el mezcal siguiendo el procedimiento antes descrito. Aunque éste es todavía rústico, en algunos otros lugares del mismo estado como las establecidas cerca de la ciudad de Oaxaca, y de otras regiones del país, las mezcalerías tienen instalaciones más modernas. Pese a la antigüedad y a la tradición del proceso de elaboración del mezcal, el cual es bien conocido y relativamente controlado con la intención de obtener un producto de buena calidad, todavía no se han hecho investigaciones microbiológicas que precisen el tipo de bacterias y levaduras responsables de la fermentación del mosto del mezcal. En consideración a esto, en el presente estudio se comunica la identidad específica de la única levadura aislada de dicho mosto por los autores.

MATERIAL Y METODOS

La levadura estudiada fue aislada del mosto de mezcal mencionado, de tres días de fermentación, utilizando placas de medio de V8 agar, las cuales fueron inoculadas con el asa, haciendo múltiples estrías en varias placas de medio con el objeto de diluir el inóculo tomado con dicha asa. De las colonias puras que crecieron en el medio se separó la cepa a ser estudiada respecto a sus caracteres morfológicos, fisiológicos y bioquímicos, de acuerdo con los métodos indicados en el tratado de Lodder (1970). La identificación de la especie se logró utilizando las claves y descripciones de dicho tratado, así como las claves de la guía para la identificación y clasificación de levaduras de Barnett, Payne y Yarrow (1979).

DESCRIPCION DE LA CEPA DE LEVADURA AISLADA DEL MOSTO DE MEZCAL

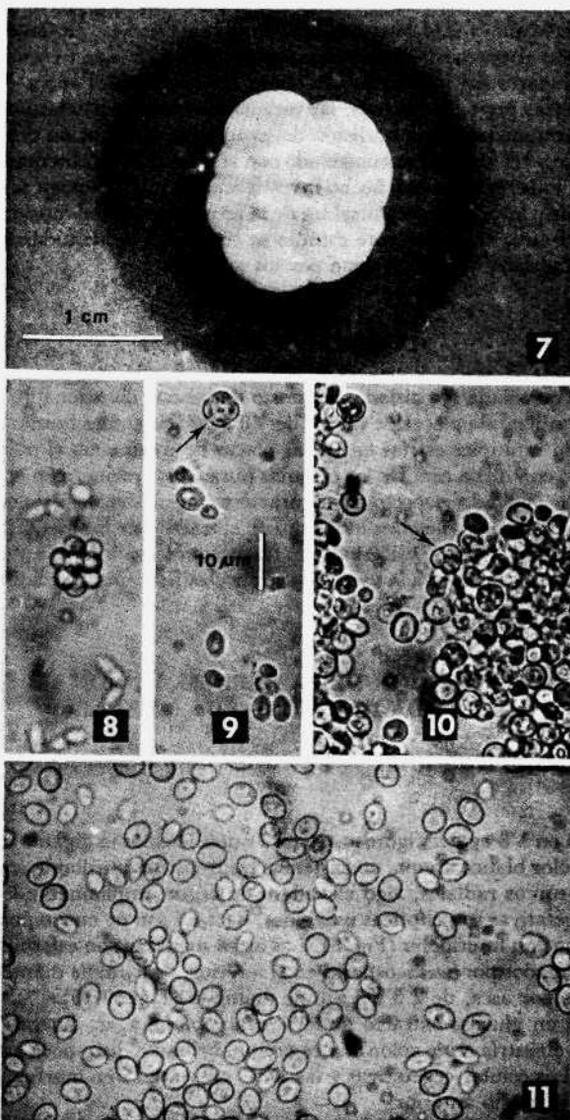
Saccharomyces cerevisiae Hansen
Figs. 7-11

Crecimiento en V8 agar. Vigoroso. A los 21 días la colonia gigante es de 1.3 cm de diámetro, de color blanco crema, consistencia butirosa, semibrillante, con la superficie lisa y algunos surcos radiales, algo elevada y de borde ampliamente lobado (Fig. 7). Las células vegetativas son elípticas u ovoides, de 2 a 7 μm de ancho por 3 a 9.5 μm de largo, con gemación multipolar (Fig. 8). Las ascas maduras son esferoidales o elípticas con lóbulos formados por las ascosporas en el interior, de 8 μm de diámetro; 4 ascosporas esferoidales por asca, de 2.5 a 3 μm de diámetro (Figs. 9-10).

Crecimiento en glucosa-extracto de levadura-peptona-agar. Bueno. Después de 3 días, el cultivo en estría es de color blanco crema, brillante, liso, poco elevado, y con el borde entero. Las células vegetativas y las ascas presentan una morfología similar a la indicada para el medio anterior.

Crecimiento en medios líquidos de extracto de malta y de glucosa-extracto de levadura-peptona. Presenta sedimento blanco y turbidez pero no película ni anillo.

Placa de Dalmau en harina de maíz agar. No forma pseudomicelio ni en éste ni en los otros medios probados (Fig. 11).



Figuras 7-11. *Saccharomyces cerevisiae*. 7: colonia gigante de 21 días en medio de V8-agar, $\times 3$. 8: célula vegetativa con gemación multipolar, en medio de V8-agar, $\times 1000$. 9-10: ascas con cuatro y tres ascosporas esferoidales en foco (flechas), en medio de glucosa-extracto de levadura-peptona-agar, $\times 1000$. 11: células vegetativas en placa de Dalmau en medio de harina de maíz-agar.

Esporulación. Desarrolla ascas después de un mes en V8 agar y en glucosa extracto de levadura-peptona-agar; ausentes o escasas en los demás medios probados.

Fermentación de carbohidratos y de otros compuestos del carbono. Glucosa +, galactosa +, sacarosa +, maltosa +, celobiosa -, trehalosa + (tardía), lactosa -, melibiosa -, rafinosa +, melecitosa -, inulina - y α -metil-D-glucósido -.

Asimilación de carbohidratos y de otros compuestos del carbono. Glucosa +, galactosa +, L-sorbose +, sacarosa +, maltosa +, celobiosa -, trehalosa +, lactosa -, melibiosa -, rafinosa +, melecitosa +, inulina +, almidón soluble -, D-Xilosa -, L-arabinosa -, D-arabinosa -, D-ribosa +, L-ramnosa -, metanol -, etanol +, glicerol +, eritritol -, ribitol -, galactitol -, D-manitol +, D-glucitol -, α -metil-D-glucósido -, salicina -, arbutina -, DL-ácido láctico +, ácido succínico -, ácido cítrico -, inositol -, gluconolactona +, 2-cetogluconato -, 5-cetogluconato -, D-glucosamina -, 0.1% cicloheximida - y 0.01% cicloheximida -.

Asimilación de nitrato de potasio o nitrito de sodio. Negativa.

Crecimiento en medio libre de vitaminas. Positivo.

Formación de almidón extracelular. Negativa.

Tolerancia al cloruro de sodio. Entre 12% y 13%.

Crecimiento en 50% y 60% (peso/peso) de glucosa-extracto de levadura peptona-agar. Negativo. Hubo crecimiento hasta 40% de glucosa y el cultivo adquirió un color moreno.

Crecimiento a 30°C. Positivo. Crecimiento a 37°C. Positivo.

DISCUSION

Como en el caso de otras bebidas fermentadas tradicionales de México, en la elaboración del mezcal tampoco hay uniformidad ni control microbiológico en las diferentes etapas del proceso seguido en distintos lugares, de manera que la inoculación del mosto es al azar; sin embargo, es posible que en las cubas de fermentación se conserven células de bacterias y levaduras viables que constituyan el inóculo en las fermentaciones sucesivas, debido a que el producto final generalmente tiene una cierta constancia en sus características dependiendo de la región donde se obtiene.

Al parecer, este es el primer registro sobre la determinación de la especie de levadura que interviene en la fermentación del mosto del mezcal. Aunque sólo se aisló *Saccharomyces cerevisiae* en el mosto estudiado y hubo una constancia en el tipo de colonias obtenidas del mismo, es posible que intervengan otras especies de levaduras en dicha fermentación, sobre todo si se consideran diferentes regiones de producción del mezcal. Es importante hacer notar la constancia de *S. cerevisiae* en la fermentación de diversas bebidas indígenas de México (Ulloa y Herrera, 1979; Ulloa y Herrera, 1981; Herrera y Ulloa, 1981; Herrera y Ulloa, 1982), aunque las distintas cepas de esta especie, aisladas por los autores, presentan diferencias morfológicas y fisiológicas según su procedencia. Sería interesante estudiar en detalle las posibilidades de utilizar en la industria las diferentes cepas de acuerdo a su capacidad de producción de alcohol y de otras sustancias, así como en la elaboración de diversas bebidas y alimentos, considerando la versatilidad de *S. cerevisiae* para desarrollarse en distintos tipos de sustratos y condiciones ambientales.

A diferencia de otras bebidas fermentadas indígenas de México y de otras regiones del mundo, el mezcal, igual que otras bebidas destiladas o licores, no contiene los microorganismos que provocan la fermentación de los sustratos y, por lo tanto, no existe el peligro de ingerir microorganismos vivos, patógenos o potencialmente patógenos, aunque cabría la posibilidad de ingerir sustancias tóxicas volátiles incorporadas en el producto destilado, en el caso en que se desarrollaran microorganismos capaces de producir dichas sustancias. Por otra parte, en los productos destilados, no existe la posibilidad de ingerir microorganismos vivos benéficos, como es frecuente que suceda con otras bebidas fermentadas indígenas, no destiladas, como el tesguino, el pozol, el tepache, el pulque, el colonche y la tuba, algunos de los cuales pueden tener usos rituales o medicinales y que contribuyen a la alimentación de los consumidores habituales porque les proporcionan una cierta cantidad de proteínas, vitaminas y otros nutrimentos que sintetizan los microorganismos durante los procesos de fermentación. Sánchez-Marroquín (1979) proporciona datos sobre la importancia de los magueyes y de sus productos en la industria alimentaria.

Como en el caso de otras bebidas fermentadas autóctonas de México, el mezcal podría ser elaborado con un control microbiológico y bajo condiciones higiénicas que permitieran lograr productos uniformes de óptima calidad.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la asistencia técnica de la M. en C. Cora Salinas por la elaboración de los medios de cultivo básico utilizados en el presente estudio.

Se reconoce que el biólogo Ignacio Piña Luján proporcionó los datos sobre la identificación de las especies de los magueyes mezcaleros citados.

También se incluyen aquí fotografías del Dr. Manuel Ruiz Oronoz relacionadas con la elaboración del mezcal (Figs. 1-6).

LITERATURA CITADA

- Barnett, J. A., R. W. Payne y D. Yarrow, 1979. *A guide to identifying and classifying yeasts*. Cambridge University Press, Cambridge, 315 p.
- Cabrera, L., 1974. *Diccionario de aztequismos*. Ediciones Oasis, S. A. México, D. F., 166 p.
- Herrera, T. y M. Ulloa, 1981. Estudio de *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida valida*, levaduras aisladas del colonche de San Luis Potosí, México. *Rev. lat-amer. Microbiol.* 23 (4): 219-223.
- _____, 1982. *Pichia membranaefaciens* y *Saccharomyces cerevisiae*, levaduras que intervienen en la fermentación de la bebida llamada tepache en México. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 17: 15-24.
- Lodder, J., 1970. *The yeasts, a taxonomic study*. North Holland Publishing Co., Amsterdam, 1385 p.
- Nelson, E. W., 1902. The agaves, a remarkable group of useful plants. Reprint from yearbook of U. S. Department of Agriculture for 1902, pp. 312-320.
- Robelo, C. A., 1904. *Diccionario de aztequismos*. Tercera Edición (s.f.). Ediciones Fuente Cultural, México, D. F., 548 p.
- Sánchez-Marroquín, A., 1979. *Los agaves de México en la industria alimentaria*. Centro de Estudios Económicos y Sociales del Tercer Mundo, México, D. F., 526 p.
- Ulloa, M. y T. Herrera, 1979. Aspectos generales sobre etnología, microbiología y química de bebidas fermentadas indígenas de México. *Bol. Soc. Mex. Hist. Nat.* 39 (en prensa).
- _____, 1981. Estudio de *Pichia membranaefaciens* y *Saccharomyces cerevisiae*, levaduras que constituyen parte de las zoogreas llamadas tibicos en México. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 16: 63-75.