
ASPECTOS METABOLICOS DE LAS LEVADURAS DEL PULQUE

A. SÁNCHEZ MARROQUIN

Escuela Nacional de Ciencias Químicas, U.N.A.M.

Discurso inaugural Como Presidente de la Sociedad en 1962.

Del Río-Estrada (1947), Sánchez Marroquín (1949) y Ruiz Oronoz (1953) han revisado ya en forma más o menos amplia diversos aspectos relacionados con la microbiología del pulque, entre los cuales mencionan algunos referentes a la morfología y la bioquímica de las levaduras.

Ahora pretendemos analizar en la forma más breve posible los estudios que en el transcurso de 92 años (1870-1962) se han realizado en nuestro país sobre las mencionadas levaduras, citando principalmente los aspectos metabólicos de las mismas.

En la tabla I se sumarizan por orden cronológico las principales aportaciones al respecto.

Fue indudablemente el Dr. J. Barragán (1870) quien primero estudió no sólo la morfología, sino algunos caracteres metabólicos de una levadura del pulque que consideró como del género *Cryptococcus*. Posteriormente, nuevos estudios hacen hincapié en los datos puramente morfológicos y de observación general, sin entrar en consideraciones taxonómicas precisas y sin aportar datos metabólicos de significación. Entre los investigadores figuran prominentemente Gaviño (1896-1901), Carbajal (1901), Cordero (1916) y Guilliermond (1917).

Entre estos trabajos pueden considerarse como fundamentales los de Carbajal (1901), quien hace la primera descripción detallada de una levadura aislada del pulque a la que designa con el nombre de *S. cerevisiae agavica silvestre* y se refiere además a una *Torula* rosada y los de Guilliermond (1917), quien estudia dos cultivos aislados por Cordero y los considera en los géneros *Saccharomyces* y *Pichia*, sin llegar a la diferenciación específica. Más tarde Ruiz Oronoz (1936-1942), en una serie de trabajos muy detallados y de acuerdo con las técnicas de Stelling-Dekker y Lodder, logra distinguir cinco especies de levaduras aisladas del aguamiel y del pulque: *Saccharomyces carbajali*, *Pichia barragani*, *Torulopsis hidromellitis*, *Torulopsis acquamellis* y *Rhodotorula incarnata*. Finalmente sumariza los datos principales de esos estudios en su tesis doctoral publicada en 1942.

En virtud de considerar al trabajo de Ruiz Oronoz como lo más serio realizado en lo concerniente a taxonomía de estas levaduras, nos permitiremos formular algunos breves comentarios acerca de las especies que ha descrito.

Saccharomyces carbajali.— Los datos de la tabla II muestran una estrecha semejanza metabólica general, entre esta especie y *S. cerevisiae*, de la cual difiere únicamente en la fermentación de la maltosa y la asimilación de la sacarosa. A través de nuestra experiencia podemos indicar que estos datos parecen no ser constantes para la especie *S. carbajali* Ruiz pues hemos aislado cepas que se ajustan exactamente a los caracteres bioquímicos principales de *S. cerevisiae*. Por lo que respecta a los datos morfológicos, el propio Dr. Ruiz Oronoz está de acuerdo en que son muy semejantes. En tal virtud, juzgamos conveniente sugerir que se realicen estudios más detallados, ampliando la asimilación de compuestos de carbono, siguiendo las técnicas modernas de Wickerham.

Pichia barragani.— Esta especie aparece incompletamente descrita, pues omite las pruebas de asimilación a las que el propio Dr. Ruiz Oronoz da en el resto de sus trabajos la importancia que requieren. En realidad esta levadura sólo asimila la glucosa, según nuestros datos. Por este carácter, y además por no fermentar ningún azúcar y presentar características morfológicas idénticas a *Pichia membrancefaciens*, pensamos que debe revisarse también y determinarse su posición taxonómica correcta.

Torulopsis hidromellitis.— En un estudio previo (Sánchez Marroquín y Massieu, 1955), apuntamos la estrecha coincidencia metabólica entre esta levadura y la aislada por nosotros del aguamiel y del pulque, que consideramos perteneciente a la especie *Candida parapsilosis*. Los datos bioquímicos y fisiológicos comparativos que presentamos ahora en la misma tabla II confirman esta suposición, por lo que consideramos a la especie *T. hidromellitis* Ruiz en sinonimia con *C. parapsilosis*. Es necesario aclarar que el desarrollo de micelio o pseudomicelio que caracteriza al género *Candida* se logra también con *T. hidromellitis* haciendo las observaciones de microcultivos en gelosa-papa y gelosa-malta por el método de las placas Dalmou, según la modificación de

Wickerham.



Dr. Alfredo Sánchez Marroquín, Presidente durante 1962

Torulopsis aquamellis y *Rhodotorula incarnata*.— Aunque estas especies no han sido estudiadas por nosotros desde el punto de vista taxonómico, nos permitimos sugerir también su revisión mediante el empleo de técnicas actuales.

Creemos que el Dr. Ruiz Oronoz, cuyo espíritu científico y magníficas dotes de investigador, son bien conocidos, continuará los estudios que iniciará en 1938 y nos brindará en un futuro próximo resultados definitivos acerca del interesante tema de la taxonomía de estas levaduras.

Después de los trabajos del Dr. Ruiz Oronoz, pasan 5 años sin que ningún investigador mexicano realice aportación alguna al respecto, y sólo hasta 1947, aparecen diversas publicaciones nuestras a las cuales nos referimos brevemente.

FERMENTACIÓN ALCOHOLICA con *S. carbajali*.

El estudio del metabolismo de *Sacharomyces carbajali* que es desde luego la levadura más importante del pulque, ha revelado una actividad digna de ser tomada en consideración como agente eficaz de la fermentación alcohólica con propósitos industriales, pues el rendimiento obtenido a partir de glucosa ha sido de 84.7 a 90.2 %, según las condiciones. Esta levadura también ha resultado útil para fermentar melazas, harina de arroz, harina de maíz y otros sustratos amiláceos previamente hidrolizados. En estos casos se ha obtenido un rendimiento de 79.1 a 89.6 %, según el material empleado. La harina de maíz hidrolizada ha sido el sustrato que ha permitido mayores rendimientos (tabla III).

Los resultados obtenidos muestran que la levadura en cuestión fermenta la glucosa y sus epímeros, y directamente la sacarosa. Algunas cepas fermentan, además, maltosa y galactosa.

Entre los trisacáridos fermenta la rafinosa, aunque sólo actúa sobre un tercio de este azúcar, es decir, sobre la parte fructósica de la molécula, pues no es capaz de fermentar la melibiosa que constituye las dos terceras partes restantes.

No asimila glicerol, citratos, ni tatratos, empleando estas sustancias en los experimentos como únicas fuentes de carbono, y oxida el etanol sin emplearlo aparentemente en la síntesis de material propio.

De las sustancias nitrogenadas, la peptona, la asparagina y la urea son utilizadas directamente sin adición de

factores de crecimiento. No son asimilados el nitrato de potasio ni el sulfato de amonio.

El pH que favorece a esta levadura por lo que respecta a una fermentación más rápida, o sea con menos fase estacionaria, es el de 4.5 que es más o menos el que se encuentra en el pulque cuando se inicia la fermentación alcohólica. Originalmente el aguamiel posee una reacción alcalina leve, que generalmente oscila alrededor de 7.4 y que quizá se deba a los fosfatos alcalinos que contiene.

El rendimiento máximo de etanol se obtiene a una concentración de 18 % de azúcares y aparentemente ésta es la más adecuada con miras industriales, para la obtención de bebidas de baja graduación alcohólica.

Los balances de fermentación indican que se obtiene un 82.7 % de la glucosa original del medio, en forma de productos de fermentación.

Industrialmente la levadura podría utilizarse en procesos de fermentación alcohólica a base de substratos sacarinos en las cuales produce rendimientos convenientes sobre todo si se coloca dentro de las condiciones de pH 4.5, concentración de sacarosa de 18° Brix, temperatura de 28° C y adición de una sal de amonio adecuada.

Igualmente podría emplearse en la fermentación de harinas hidrolizadas de maíz y arroz, en donde los rendimientos alcanzados son satisfactorios.

Los principales productos de fermentación presentes son: etanol, 7.19 % alcohol amílico, huellas no cuantificables; ácido acético 0.38 %; glicerol, 0.42 %; ácido succínico, 0.14 %; y CO₂, 7.12 % en medio glucosado al 18 %. La recuperación de C es de 90.2 % y el balance de oxido-reducción de 0.99.

En la fermentación de melaza el rendimiento alcohólico máximo en 48 horas llega a un 7.04 %, con 7 mg., por litro de furfural.

Empleando harinas hidrolizadas de arroz y maíz se obtuvieron como rendimientos máximos de etanol las cifras de 6.41 y 5.88%, respectivamente en 48 horas.

Al añadir sales, tales como CuSO₄, MgSO₄, NaCl, Na₂S y Na₂SO₃ es posible obtener mayores rendimientos. En efecto, el CuSO₄ parece ser, en este sentido, la sal que muestra mayor acción estimulante, aunque tiene la desventaja de retardar un poco la fermentación. El efecto estimulante sólo se muestra cuando se aplica la sal en la semilla y no durante la fermentación principal

Por otra parte, esta levadura, asociada a *Endomycopsis fibuliger*, productora de amilasa, es también efectiva en la fermentación alcohólica de algunos substratos amiláceos, especialmente harina de trigo premalteada, obteniéndose 84.6 % de rendimiento alcohólico y 87.9 %, en el consumo o hidrólisis del almidón, mientras que los cultivos con *E. fibuliger* sola, dan cifras mucho menores.

PROPAGACIÓN DE LAS LEVADURAS DEL PULQUE EN MEDIOS CON MELAZAS

Nuestros experimentos han demostrado (figs. 1 y 2) que las levaduras del pulque se adaptan perfectamente al crecimiento en melazas, excepto *Torulopsis acquamellis* que no llega a adaptarse bien e incluso desaparece en los cultivos sucesivos. *Pichia barragani* requiere aparentemente una mejor aireación para efectuar un aceptable crecimiento sumergido.

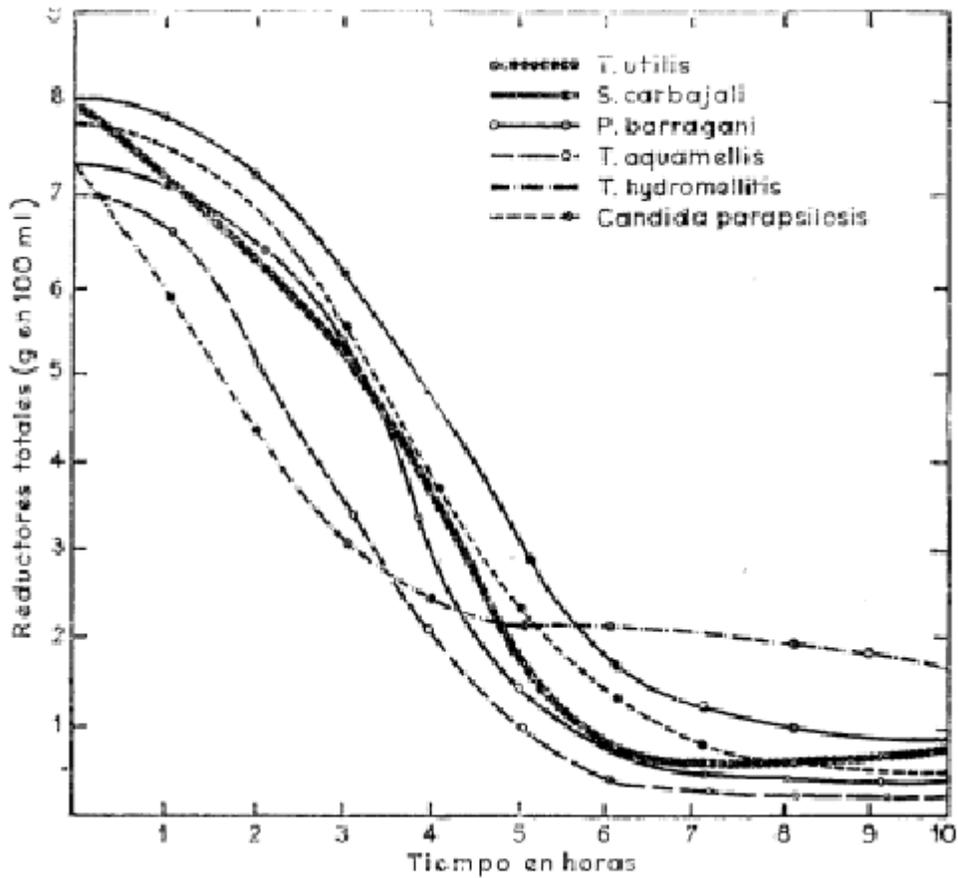


Fig. 1.—Asimilación de reductores totales por las levaduras del pulque. Medio con melazas de 9° Brix.

La concentración Brix que se toma como representativa en estos experimentos no es, de ninguna manera, la óptima, pues lógicamente se lograrían mejores resultados a un Brix inferior al 8.5 - 9.0 que se tomó como referencia.

Asimismo es admisible suponer que mejorando los sistemas de aireación y la composición de los medios, entre otros factores, sería posible obtener rendimientos más satisfactorios, comparables a los de *Candida utilis*.

Las levaduras del pulque que más se asemejan a *Candida utilis* respecto a su propagación en medios de melazas y su contenido proteico y otros datos químicos son *S. carbajali*, *C. parapsilosis* y *T. hidromellitis* (tabla IV).

Es interesante observar como el comportamiento de estas dos últimas levaduras del pulque es en lo general idéntico, siendo asimismo semejantes su composición química y las cifras de rendimiento.

En los resultados de la cuantificación proteica debe entenderse que el contenido incluye lógicamente el de N púrico y pirimídico que en las levaduras es alto y sólo el 64 a 76 o aún el 80 % del N total corresponde a aminoácidos. Aún sí, el contenido proteínico de estas levaduras es más alto que el de cualquier otro alimento de origen vegetal o animal. Por esta razón resulta de cierto interés encontrar levaduras de fácil adaptación a medios sencillos y baratos que, además, puedan ser empleadas como sustitutos de otras fuentes proteínicas que en ciertas condiciones pueden resultar de difícil adquisición.

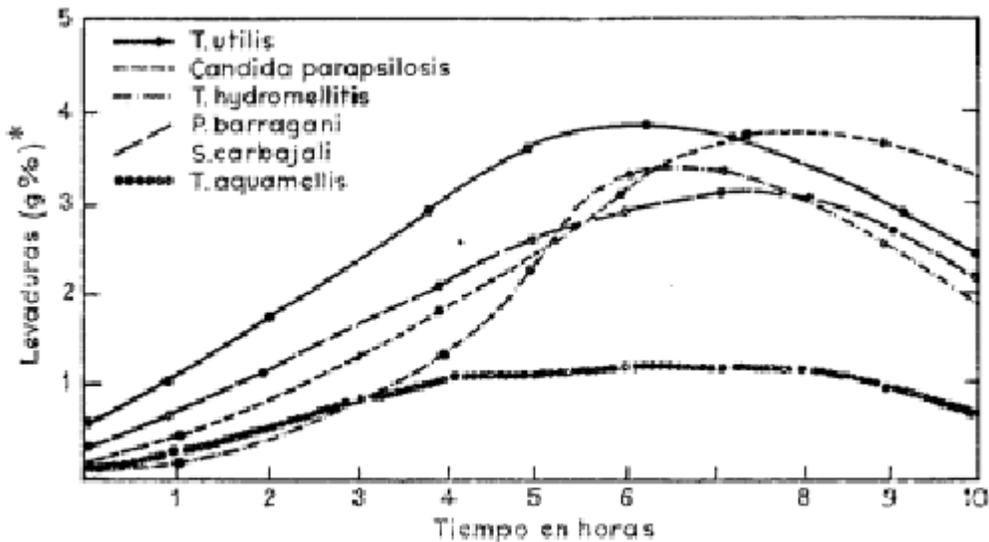


Fig. 2.— Rendimiento de levaduras (g. %) en medio con melazas a 8.5° Brix.

EMPLEO DE CULTIVOS MIXTOS (Levaduras-bacterias) EN LA FERMENTACIÓN DEL AGUAMIEL

De los estudios que hemos realizado a este respecto, se infiere que es posible efectuar una fermentación controlada, satisfactoria, a base de 3 microorganismos fundamentales: *Sacharomyces carbajali* o *Zymomonas mobilis* como agentes de la fermentación alcohólica, *Lactobacillus* sp. homofermentador como causante de la fermentación láctica y *Leuconostoc mesenteroides* como determinante de la viscosidad.

Los óptimos para una fermentación combinada empleando simultáneamente las especies señaladas para fermentar aguamiel estéril son pH 5.0, inóculo 5 % y temperatura 25-28°C (tabla V).

El rendimiento alcohólico máximo en estas condiciones es 5.4 -5.6 % en 48 horas, encontrándose además 1.5 a 1.7g. % de ácido láctico; 0.01 g. % de ácido acético, huellas de alcohol amílico y 0.70 % de gomas.

Los experimentos realizados mediante la inoculación simultánea de los referidos microorganismos, comparados con los efectuados inoculando primero las bacterias y luego las levaduras, demuestran que en este último caso el rendimiento en los productos deseables es menor, pues parece que la levadura aumenta su capacidad fermentativa en presencia de los otros microbios.

Hemos utilizado también asociaciones de solamente 2 de ellos: *S. carbajali* y *L. mesenteroides* y mezclas de éstos con *Zymomonas mobilis*, obteniendo resultados claramente diferentes.

CONSIDERACIONES FINALES

El interés principal al efectuar las investigaciones que hemos reseñado ha sido el de llegar a conocer y aprovechar las levaduras del pulque, esencialmente en lo que se refiere a sus aspectos metabólicos, con el objeto de establecer las bases para la verdadera y racional industrialización de los productos relacionados, trátase de las levaduras mismas o de sus metabolitos.

Creemos que como resultado del conocimiento bioquímico y fisiológico de los microorganismos que normalmente contiene el pulque y especialmente de aquellos que participan de manera activa en su obtención, se consiga como lo sugirió Carbajal hace 62 años, la elaboración higiénica y con base más científica de tan antigua y discutida bebida nacional y, lo que juzgamos más importante, buscar otras aplicaciones del sustrato y de los microorganismos que allí prosperan.

Desde el punto de vista económico la importancia del pulque es considerable como lo demuestran los siguientes datos:

1) El tiempo de producción de un maguey (*Agave atrovirens*), varía de 20 días a 6 meses y el volumen de aguamiel resultante es de 370 a 480 litros. Contiene agua, sacarosa, azúcares reductores, diversos aminoácidos, vitaminas (tiamina, riboflavina, niacina, ácido pantoténico, ácido ascórbico, ácido fólico, ácido p-amino-benzoico, piridoxina), gomas y diversas sales incluyendo fosfatos, por lo cual constituye un magnífico sustrato para diversas fermentaciones microbianas.

2) La concentración de sacarosa varía de 5 a 11 %, azúcar que es fermentado directamente por la levadura *Saccharomyces carbajali*, y por la bacteria *Zymomonas mobilis*. La de proteínas lo coloca entre los alimentos de orden superior por contener triptofano y de allí su importancia como complemento de la dieta de las clases menesterosas. En comparación con la cerveza, vinos y sidra, el pulque es el que posee mayor poder energético.

3) El aguamiel contiene ya las levaduras y bacterias que pueden determinar su fermentación espontánea, por lo cual es susceptible de utilizarse empíricamente, como se ha venido haciendo desde hace 6 siglos, es decir, una fermentación en 2 fases; en la 1ª se prepara la semilla o "pie de cuba" mediante una pequeña porción inicial de aguamiel pura que se deja fermentar espontáneamente y de allí se va aumentando gradualmente la cantidad de aguamiel hasta obtener el volumen necesario para inocular las tinas de fermentación. En la 2ª fase se realiza la fermentación principal que es de 8 a 10 días en el verano y de 15 a 20 en el invierno, tiempo en el cual aparece la consistencia viscosa característica de la bebida.

4) El consumo aparente de dicha bebida es extraordinario. Según datos correspondientes al año de 1953 se consumieron en el Distrito Federal alrededor de 400 millones de litros, cifra que la coloca en el 2º lugar entre las bebidas alcohólicas en seguida de la cerveza (574 millones de litros en el mismo año) y muy por encima del tequila (12 millones de litros), ron (7 millones), aguardiente (4 millones), mezcal (3 millones y medio) y whisky (1 666 000 litros). Expresados en porcentaje del consumo total de bebidas las cifras serían de 41.8 % la cerveza; 27.5 % el pulque; 9.5 % el tequila; 7.4 % el ron; 5 % los aguardientes; 3.2 % el mezcal y 1.9 % el whisky, correspondiendo el 3.7 % restante a otros tipos de bebidas.

5) En atención a la demanda extraordinaria del pulque y el renglón económico que representa se ha intentado repetidas veces la industrialización un poco más racional de los procedimientos empleados en su obtención.

Estos intentos pueden sumarse como sigue: a) embotellamiento de la bebida obtenida por fermentación espontánea (Cía. Expendedora de Pulques, S. A., de Apam, Hgo., 1900-1915, que clausuró por motivo de nuestra revolución); b) tratamiento con ozono del pulque común (1925) que fracasó porque se formaba un sedimento indeseable en el fondo de las botellas; c) conservación del aguamiel en forma de un producto comercial embotellado, denominado "Crespomel" que estuvo muy poco tiempo en el mercado en 1935; d) conservación mediante un procedimiento llamado físico y biomecánico llevando por ferrocarril el aguamiel bajo refrigeración hasta la planta de producción y una vez elaborado empíricamente el pulque, se embotellaba y sujetaba a tratamiento térmico simple (temperaturas altas y bajas alternadas a intervalos cortos y continuos) seguidos de un período llamado de maduración; esa planta operó de 1951 a 1953 con una producción de 7 a 8 000 litros diarios; e) entre los años de 1949 a 1955 aparecieron otros pulques embotellados bajo diferentes nombres comerciales: "Neutle Herradura", "Miel-Mex", "Xóchitl" y "Jícara" que duraron muy poco tiempo en circulación, a pesar de la propaganda intensa que uno de ellos desplegó, a causa fundamentalmente de dos motivos principales: uno, que el consumidor prefiere el pulque de barril al de botella y otro a la formación del ya referido sedimento que hace que el público vea con desconfianza al producto; e) intentos de deshidratación del pulque para rehidratarlo luego al tiempo del consumo y, por último, f) intentos de producción racional, científica, de la bebida, mediante el empleo de cultivos puros seleccionados y control más estricto de la fermentación. En esta fase es donde hemos participado nosotros, aunque sólo en escala de laboratorio. Los resultados iniciales los hemos publicado recientemente en la Revista de la Sociedad Química de México.

Creemos sinceramente y ya con la base técnica correspondiente, que este es el camino a seguir en la industrialización verdadera del pulque. Hemos podido constatar, en el curso de nuestros modestos estudios, que todos los factores que afectan la fermentación, desde la preparación y el control del inóculo, secuencia de las fermentaciones, desarrollo de viscosidad, etc., pueden ser regulados técnicamente para obtener una bebida que se ajuste a las normas exigidas por el Departamento de Control de Alimentos y Bebidas de la Secretaría de Salubridad y Asistencia de nuestro país, y que además permitan la elaboración de diversos tipos de pulque que satisfagan los gustos más variados.

Hemos investigado ya el metabolismo particular en lo referente a aspectos industriales, de cada uno de los

microorganismos que se aíslan usualmente del aguamiel y del pulque, tanto las levaduras a que hemos hecho referencia, como las bacterias, cuyo estudio hemos consignado en diversas publicaciones.

De esta manera hemos logrado establecer experimentalmente en el laboratorio diversos procedimientos para transformar el aguamiel en pulque en forma técnicamente aceptable y cuyo estudio en planta piloto conduciría indudablemente al logro íntegro del propósito ya ancestral de obtener una bebida científicamente elaborada.

Falta para esto la concurrencia de los dos factores indispensables en este tipo de trabajo: financiamiento adecuado de la experimentación y personal idóneo. De lo primero deben ocuparse los directamente interesados o los canales gubernamentales adecuados. De lo segundo, podemos asegurar que si la diosa Mayahuel enseñó a los aztecas, conforme dice la leyenda, algunos secretos relacionados con la recolección del aguamiel, los técnicos de ahora pueden revelar también otros secretos referentes a la elaboración integral del pulque.

Ya en 1923 la Secretaría de Industria hizo un esfuerzo trayendo a México un gran zímólogo alemán, el Dr. Paul Lindner del Instituto de Fermentaciones de Berlín, quien desafortunadamente no pudo concluir sus brillantes estudios, porque fue contratado solamente por 2 años y el problema es demasiado complejo para desarrollarse íntegramente en tan breve periodo. Sin embargo, hizo importantes descubrimientos: la existencia en el pulque de un *Leuconostoc* agente de la viscosidad; observado antes por Gaviño en 1896 y por Carbajal en 1897; de un bacilo productor de ácido láctico y de una bacteria llamada por él *Thermobacterium mobile*.

El *Leuconostoc* es probablemente el que más tarde describieran Zozaya como *Str. corrosus*, Nieto y Maecke como *Leuconostoc viscosum* y nosotros como *Leuconostoc dextranicum* y *L. mesenteroides*.

El bacilo largo productor de ácido láctico es quizá el *Lactobacillus patoni* de Nieto y Maecke que nosotros consideramos relacionado estrechamente con *L. leichmannii* y *L. sake*. La bacteria *Thermobacterium mobile* se denomina ahora *Zymomonas mobilis* y ha sido reaislada por Gonçalves de Lima, Larios y Azcárate (1950) y estudiada desde el punto de vista metabólico por diversos investigadores alemanes y norteamericanos, siendo un microorganismo de gran interés científico.

Los hallazgos de Lindner son hasta ahora los únicos derivados de un aporte económico serio de parte de un organismo gubernamental. Todos los demás han sido realizados por investigadores nacionales (excepto Guillermond y Gonçalves de Lima) en condiciones muy diferentes a las de Lindner, sobre todo sin ayuda económica específica. Ha sido producto del interés puramente científico de personas a quienes ha apasionado el tema y que no han buscado lucro. Algunas personas, cuyos nombres quedan ya definitivamente consagrados en el historial de la ciencia mexicana: Río de la Loza, Barragán, Gaviño, Carbajal, Cordero, Ruiz Oronoz, Nieto Roaro, Lobato, Pontest y Chonzal, Madinaveitia y Orozco, Fco. de P. Miranda, Roca, Llamas, Cravioto, Massieu, Guzmán, Romo, Segura y tantos otros que con su encomiable esfuerzo han ido colaborando gradual e inteligentemente en el estudio de este interesante problema nacional.

Algún día otros estudios permitirán la elaboración de un magnífico pulque, licor que tenía entre nuestros ancestros tanto valor como la misma sangre humana, al que le levantaron templos y llegó a ser "regalo de Reyes", la bebida medicinal, el líquido sacrificial, "leche de Mayahuel" la legendaria madre nutricia de los mexicanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

GONÇALVES DE LIMA, OSWALDO. 1956. "El Maguey y el Pulque en los Códices Mexicanos". Fondo de Cultura Económica. México, D. F.

—, C. LARIOS y E. AZCÁRATE. 1952. "Aislamiento y estudio de nuevas cepas de *P. lindneri* en aguamieles de la meseta central de México". Ciencia, 11: 273-277.

LINDNER, P., 1928. "Atlas der mikroskopischen Grundlagen der Gärungskunde". Mexiko. Tafeln 66-70. Berlin Ver. Paul Parey.

—, 1930. "Mikroskopische und biologische Betriebskontrolle in dem Gärungsgewerbe mit besonderer Berücksichtigung der Brauerei". Sechste neubearbeitete Auflage. Agavengärungen, pp. 581-593. Berlin Ver. Paul Parey.

MONTEMAYOR LOYOLA, ELÍAS, 1956. "La industria del Pulque". Banco de México, S. A. Departamento de Investigaciones Industriales. México, D. F.

- MADINAVEITIA, A. y F OROZCO. "Contribución a la bioquímica del Agave". Anal. Inst. Biol., 11 (1): 373-383, 1940.
- NIETO ROARO, D. y M. MAECKE, 1938. "Contribución al estudio bacteriológico del aguamiel y del pulque". I. *Lactobacillus patonii* n. sp. An. Inst. Biol., 9 (1-2): 25-48.
- , 1940. "Contribución al estudio bacteriológico del aguamiel y del pulque". II. *Leuconostoc viscosum* (Carbajal, 1901). Anal. Inst. Biol., 11 (1): 1-34.
- ROCA, J. y R. LLAMAS, 1938. "Las vitaminas del pulque". Anal. Inst. Biol. 9 (1-2): 81-84.
- , 1939. "Cimasas del pulque". Ibid., 10 (1-2): 19-28.
- , 1939. "El nitrógeno del pulque". Ibid., 10 (1-2): 29-32.
- , 1940. "Consideraciones sobre el valor alimenticio del pulque". Ibid., pp 363-371.
- ROMO, JESUS. 1945. "Estudio químico de las bebidas fermentadas obtenidas del maguey (agave)" Bol. Inst. Química, 1: 67-74, México, D. F. Cit. por Del Río (2).
- SÁNCHEZ-MARROQUÍN, A., 1948. "Estudios sobre la microbiología del pulque". II. Utilización de *Lactobacillus Sp.* en la fermentación láctica del aguamiel hidrolizada (notas preliminares). An. Esc. Nac. Cien. Biol. Vol. 5 (1-2): 13-18, México. D. F.
- , 1949. "Nuevos datos acerca de Microbiología del pulque" Rev. Acad. Nal. Ciencias, 56 (4): 514.
- , 1949. "Estudios sobre la microbiología del pulque". VI. Datos adicionales bioquímicos y serológicos acerca de las *Leuconostoc* presentes. An. Esc. Nal. Cien. Biol., (México). 6 (1-4): 7-17.
- , 1952. "Estudios sobre la microbiología del pulque". X. Un aspecto del metabolismo del *Lactobacillus sp.* Ciencia (México), 12 (1-2): 23-26.
- , 1952. "Estudios sobre la microbiología del pulque" XI. Datos serológicos acerca de *Lactobacillus sp.* Ciencia (México). 12 (1-2): 27-30.
- , 1953. "Actividad bioquímica de algunos microorganismos del pulque". Mem. I. Congr. Científ. Méx., II: 471-484.
- SANCHEZ-MARROQUIN, A. y C. WILD. 1946. "Estudios sobre la microbiología del pulque". I. Características morfológicas y bioquímicas de *Lactobacillus sp.* Ciencia, 7: 207-214.
- , CELSA CELIS y C. DEL RÍO. 1950. "Estudios sobre la microbiología del pulque." VII. Aspectos del metabolismo de algunos *Leuconostoc* presentes. An. Esc. Nal. Cien. Biol. (México), 6 (1-4): 7-17.
- , y H. BALANDRO, 1950. "Estudios sobre la microbiología del pulque", VIII. Presencia de algunos factores de crecimiento bacteriano. An. Esc. Nal. Cien. Biol. (México), 6 (1-4): 31-39.
- , y A ECHEGARAY. 1954. "Estudios sobre la microbiología del pulque", XIII. Fermentación láctica de melazas hidrolizadas, con *Lactobacillus sp.* Rev. Soc. Mex. Hist. Nat., 15: 21 - 40.
- , y L. ARCINIEGA, 1948. "Estudios sobre la microbiología del pulque", III. Actividad dextranogénica de *Leuconostoc* aislados del aguamiel. An. Esc. Nac. Cien. Biol. (México), Vol. 5 (1-2): 19-27.
- , y H. RODRÍGUEZ, 1948. "Estudios sobre la microbiología del pulque", IV. Comportamiento serológico de dos dextranas de *Leuconostoc*. An. Esc. Nac. Cien. Biol. (México), 5 (1-2): 29-37.

TABLA I. — TRABAJOS SOBRE LEVADURAS DEL PULQUE

(1870-1860).

INVESTIGADOR	AÑO	LEVADURAS ESTUDIADAS	REFERENCIAS
--------------	-----	----------------------	-------------

J. Barragán	1870	<i>Cryptococcus</i>	La Naturaleza, 1ª serie, Vol. I, p. 228-233, 1870 D.F.
A. Gaviño	1896	Aisló levaduras pero no las clasificó	Rev. Quím de Anat. Pat. y Clín. Méd. Quir., I (8 246-251, 1896.
A. Gaviño	1901	<i>Saccharomyces cerevisiae agavica</i>	Bol. Inst. Pat., 1: 14-16, 1901.
A. J. Carbajal	1901	<i>S. cerevisiae agavica silvestre</i>	Bol. Soc. Agr. Mex., núms. 33-34, 1901, Of. Tip Fomento.
M. Cordero	1916	Aisló levaduras que envió a Guilliermond.	Bol. Dir. Est. Biol., 1: 561-579, 1916.
A. Guilliermond	1917	<i>Saccharomyces sp. Pichia sp.</i>	Bol. Dir. Est. Biol., 2: 22-28, 1917. Ann. Inst. P: 31: 107-113, 1917.
M. Morton Gómez (Adte. de Lindner)	1925	Cita las levaduras de Guilliermond y las llama <i>S. agave</i> y <i>Pichia agave</i>	Tesis Esc. Nal. de Cien. Quím. U.N.M., 1925.
G. Fernández Tagle	1931	Cita a <i>Pichia sp.</i> y otros tipos de <i>S. cerevisiae</i> , refiriéndose al trabajo de Guilliermond y dos <i>Torulas</i> no bien descritas.	Tesis Esc. Nal. de Cien. Quím. U.N.M., 1931.
M. Ruiz Oronoz	1936	Resumen bibliográfico de levaduras del pulque	An. Inst. Biol., 7: 251-258, 1936.
“ “ “	1938	<i>S. carbajali</i>	An. Inst. Biol., 9: 49-80, 1938.
“ “ “	1939	<i>Pichia barragani</i>	Ibíd., 10: 191-219, 1939
“ “ “	1940	<i>Torulopsis hydromelitis</i>	Ibíd., 11: 539-554, 1940.
“ “ “	1941	<i>Torulopsis acquamellis</i>	Ibíd., 12: 49-68, 1941.
“ “ “	1942	<i>Rhodotorula incarnata</i>	Ibíd., 13: 1-21, 1942.
“ “ “	1942	Redescribe las tres primeras	Tesis doctoral. Fac. Ciencias, Depto. Biól. U.N.
C. del Río Estrada	1947	Revisión bibliográfica	Ciencia, 8: 121-126, 1947.
A. Sánchez-Marroquín y M. Solórzano.	1947	<i>S. carbajali</i> , fermentación asociada a <i>E. fibuliger</i>	An. Esc. Nal. de C. Biol., 4: 311-324, 1947.
A. Sánchez-Marroquín, C. del Río Estrada y C. Celis.	1949	<i>S. carbajali</i> (metabolismo)	An. Esc. Nal. de C. Biol., 20: 27-42, 1949.
A. Sánchez-Marroquín.	1949	<i>S. carbajali</i> (metabolismo)	Mem. y Rev. Acad. nal. Ciencias, 56: 505-517,
“ “ “	1950	<i>S. carbajali</i> Revisión	Mem. IV Cent. U.N.A.M.
A. Sánchez-Marroquín y F. McGregor.	1950	<i>S. carbajali</i> (fermentación)	Mem. IV Cent. U.N.A.M.
M. Ruiz Oronoz.	1953	Revisión bibliográfica	An. Inst. Biol., 23: 13-37, 1953.
A. Sánchez-Marroquín y P. H. Hope.	1953	<i>S. carbajali</i> , <i>Th. hydromelitis</i> , <i>T. acquamellis</i> y <i>P. barragani</i> (revisión y datos metabólicos generales)	Agr. & Food., Chem., 1: 246-249, 1953.
A. Sánchez-Marroquín	1955	<i>Candida parapsilosis</i> incidencia y caracteres)	Ciencia (Méx.), 15: 129-135, 1955.
“ “ “	1955	<i>C. parapsilosis</i> , <i>S. carbajali</i> , <i>T. hydromelitis</i> y <i>P. barragani</i> (propagación y datos químicos)	Ciencia (Méx.), 15: 136-140, 1955.

A. Sánchez-Marroquín y G. Massieu.	1957	<i>T. hydromelitis</i> y <i>C. parapsilosis</i> (datos químicos)	Ciencia (Méx.), 16: 129-135, 1957.
A. Sánchez-Marroquín, J. Terán y J. Piso.	1957	<i>S. carbajali</i> cultivos mixtos)	Rev. Soc. Quím. Méx., 1: 167-174, 1957.

TABLA II. — DIVERSOS DATOS BIOQUIMICOS Y FISIOLÓGICOS DE LAS LEVADURAS DEL PULQUE.

Levaduras	Zimograma								Auxanograma						
	Glu	Gal	Sac	Mal	Lac	Raf	Man	d-arab	Glu	Gal	Lac	Sac	Man	Mal	Raf
<i>T. hydromelitis</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-
<i>S. carbajali</i>	+	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>S. cerevisiae</i>	+	±	+	+	-	+	+	-	+	±	-	+	-	-	-
<i>T. aquamellis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-
<i>P. barragani</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-

TABLA III

FERMENTACION DE MELAZAS Y HARINAS DE ARROZ Y MAIZ POR *SACCHAROMYCES CARBAJALI* RUIZ

SUSTRATO	Azúcares residuales g %	Azúcares utilizados g %	Etanol producido %	% de rendimiento
Melazas 18° Brix con 1 % de (NH ₄) ₂ SO ₄	1.5	16.6	6.8	-
Harina de arroz hidrol.; red. iniciales 17.2 %	1.7	15.5	6.4	79.1
Harina de maíz hidrol.; red. iniciales 16.3 %	1.2	16.2	5.9	84.0

TABLA IV

DATOS QUÍMICOS DE TRES LEVADURAS DEL PULQUE COMPARADOS CON *CHLORELLA PYRENOIDOSA* Y *CANDIDA UTILIS*

Determinaciones g% en material seco	<i>Chlorella pyreïnoidosa</i> Col Ind. 26	<i>Candida utilis</i> NRRL Y-900	<i>Torulopsis hidromelitis</i> Ruiz	<i>Candida parasilopsis</i> Kars	<i>Saccharomyces carbajali</i> Ruiz
Nitrógeno	6.18	7.92	7.58	7.63	7.72
Proteínas	38.65	49.40	47.25	47.72	48.14
Arginina	2.16	5.15	2.40	2.31	2.72
Fenilalanina	2.44	3.80	1.50	1.89	1.91
Histidina	0.52	1.70	0.80	0.89	0.98

Isoleucina	1.79	5.50	3.15	3.89	3.20
Leucina	3.52	7.67	3.47	3.67	3.15
Lisina	2.40	6.81	2.70	2.59	5.20
Metionina	0.91	0.89	0.45	0.57	0.80
Treonina	2.92	5.12	3.01	3.10	3.40
Triptofano	0.85	0.65	0.70	0.50	0.83
Valina	2.43	6.18	2.51	2.66	2.33
Riboflavina (mg %)	5.76	9.03	7.91	8.34	7.90
Tiamina(mg %)	1.63	1.68	1.31	1.20	1.18
Fósforo	0.61	1.85	1.46	1.67	1.96

TABLA V

ANÁLISIS DE LOS PRODUCTOS EN LAS MEJORES CONDICIONES SEGUN LOS DATOS EXPERIMENTALES, COMPARADOS CON AGUAMIEL Y MUESTRAS DE PULQUE

Análisis efectuados	Aguamiel sin fermentar	Pulque ordinario	Pulque de botella	Prod. obt. exp. No. 2	Prod. obt. Exp. No. 5
Brix	8	4.5	3.0	5.5	6.5
Densidad	1.023	1.013	1.015	1.050	1.029
Índice de refracción	1.335	1.334	1.344	1.335	1.344
Grado alcohólico	0.08	4.4	5.1	5.6	5.1
Alcoholes Sup. en amílico g %	0.13	1.04	1.34	0.96	0.911
Alcohol Sup. en alcohol anhidro g %	6.8	16.2	19.1	17.2	17.8
Acidez total en ácido láctico g %	0.79	1.45	2.81	1.58	1.57
Acidez fija en ácido láctico g %	0.33	1.20	1.87	1.70	1.57
Acidez volátil ac. acético g%	0.003	0.015	0.059	0.014	0.016
Red. totales en glucosa g %	7.37	0.33	0.23	0.46	0.41
Red. directos en glucosa %	2.40	0.28	0.11	0.37	0.39
Sacarosa g%	7.1	0.40	-	0.37	0.39
Gomas en glucosa g %	0.58	0.64	0.72	0.70	0.68
Proteínas crudas g%	1.08	0.27	0.31	0.34	0.31
Cenizas g %	0.28	0.30	0.30	0.17	0.17
Residuo seco g%	7.21				
pH	6.3	4.31	3.7	4.6	4.5