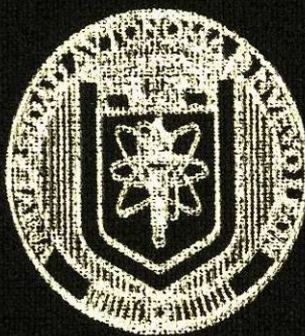


**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**

**FACULTAD DE AGRONOMIA**



**AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE CEPAS  
 UTILES EN LA FERMENTACION ALCOHOLICA**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
 INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**PRESENTA**

**FLORENCIO LERMA HERNANDEZ**

**MARIN, N. L.**

**JUNIO DE 1995**

TL

TP561

.L4

1995

c.1





1080110975

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE AGRONOMIA



PRESENTA  
AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE CEPAS  
UTILES EN LA FERMENTACION ALCOHOLICA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

PRESENTA

FLORENCIO LERMA HERNANDEZ

MARIN, N. L.

JUNIO DE 1993





TL  
TPSGI  
- 24  
1995



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON**

**FACULTAD DE AGRONOMIA**

**AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE CEPAS UTILES EN LA  
FERMENTACION ALCOHOLICA**

**TESIS**

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TITULO DE  
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**PRESENTA**

**FLORENCIO LERMA HERNANDEZ**

**COMISION REVISORA**

**PRESIDENTE**

  
**PhD. RIGOBERTO GONZALEZ GONZALEZ**

**SECRETARIO**

  
**ING. MARGARITO DE LA GARZA D.**

**VOCAL**

  
**ING. CARLOS CÉSAR RODRIGUEZ A.**



## **AGRADECIMIENTOS**

**A DIOS:  
POR PERMITIRME LA VIDA**

**A MIS PADRES:  
SR. VICTORIO LERMA ALANIS  
SRA. LINA HERNANDEZ DE LERMA  
POR DARME LA HERENCIA MAS GRANDE DEL MUNDO, MI PROFESION**

**A MI ESPOSA:  
MA. DE LA LUZ ROCHA DE LERMA  
POR SU COMPRESION Y MECANO-  
GRAFIADO DE ESTA TESIS.**

**A MIS TIOS:  
MI MUY ESPECIAL RECONOCIMIENTO  
AL APOYO DESINTERESADO QUE --  
SIEMPRE ME BRINDARON:  
SR. URBANO RODRIGUEZ H.  
SRA. MA. CRISTINA HERNANDEZ DE RDZ.**

**A MIS HERMANOS:  
ALVARO, JOAQUINA, PETRA, MAGDALENA, MA. LUCIA Y ADRIANA**

**A LA FACULTAD DE BIOLOGIA  
DE LA U.A.N.L. POR SU --  
APOYO CON INFRAESTRUCTURA**

**AL C.B.T.A 143, DE STA. MA.DEL RIO, S.L.P.  
POR DARME LAS FACILIDADES NECESARIAS EN LA  
TERMINACION DEL TRABAJO, AL CENTRO DE COMPUTO,  
CON ESPECIAL, DISTINCION A MI MAESTRA, COMPAÑERA  
Y AMIGA LIC. SAGRARIO CASTILLO CASANOVA.**

## INDICE

I.- INTRODUCCION . - - - - -	1
1.1.- Antecedentes e importancia - - - - -	1
1.2.- Objetivos - - - - -	2
II.- REVISION DE LITERATURA. - - - - -	3
2.1.- La miel - - - - -	3
2.1.1. Composición química de la miel - - - - -	4
2.1.2. Propiedades de la miel - - - - -	6
2.1.3. Usos de la miel - - - - -	7
2.2.- Las levaduras - - - - -	7
2.2.1. Morfología de las levaduras - - - - -	7
2.2.2. Reproducción de las levaduras - - - - -	8
2.2.3. Fisiología de las levaduras - - - - -	9
2.2.4. Levaduras patógenas - - - - -	9
2.3.- Hidromiel - - - - -	9
2.3.1. Elaboración del hidromiel - - - - -	-10
2.3.2. Efecto del pH y temperatura -- - - -	10
2.3.3. Acción de las levaduras - - - - -	-11
III.- MATERIALES Y METODOS - - - - -	12
3.1.- Aislamiento -- - - -	13
3.2.- Identificación -- - - -	-13
3.2.1. Características morfológicas - - - - -	-14
3.2.2. Características del cultivo - - - - -	14
3.2.3. Características reproductivas - - - - -	14
3.2.4. Características fisiológicas - - - - -	-15
3.2.4.1. Fermentación de azúcares - - - - -	-15
3.2.4.2. Asimilación de compuestos de carbono - - -	-16



3.3.-	Determinación de condiciones óptimas de crecimiento--	16
3.3.1.	Optimización del pH - - - - -	17
3.3.2.	Optimización de la temperatura - - - - -	17
3.4.-	Elaboración del vino - - - - -	18
3.4.1.	Preparación del inóculo - - - - -	19
3.4.2.	Preparación del sustrato - - - - -	19
3.4.3.	Fermentación - - - - -	20
3.4.4.	Obtención del vino - - - - -	20
3.4.5.	Análisis del vino - - - - -	20
3.5.-	Conservación de las levaduras - - - - -	20
3.5.1.	Subcultivos - - - - -	23
3.5.2.	Inmersión en aceite mineral - - - - -	23
3.5.3.	Secado - - - - -	23
IV.-	RESULTADOS - - - - -	25
4.1.-	Aislamiento - - - - -	25
4.2.-	Identificación - - - - -	25
4.2.1.	Características morfológicas - - - - -	25
4.2.2.	Características del cultivo - - - - -	27
4.2.3.	Características reproductivas - - - - -	27
4.2.4.	Características fisiológicas - - - - -	27
4.2.4.1.	Fermentación de azúcares - - - - -	27
4.2.4.2.	Asimilación de compuestos de carbono - - - - -	29
4.3.-	Determinación de condiciones óptimas de crecimiento-	30
4.3.1.	Optimización del pH - - - - -	30
4.3.2.	Optimización de la temperatura - - - - -	30
4.4.-	Elaboración del vino - - - - -	35
4.4.1.	Preparación del inóculo -- - - - - -	35
4.4.2.	Preparación del sustrato - - - - -	35

4.4.3. Fermentación	35
4.4.4. Obtención del vino	37
4.4.5. Análisis del vino	37
4.5.- Conservación de las levaduras	38
4.5.1. Subcultivos	38
4.5.2. Inmersión en aceite mineral	38
4.5.3. Secado	39
V.- CONCLUSIONES	40
VI.- RECOMENDACIONES	41
VII.- RESUMEN	42
VIII.- BIBLIOGRAFIA	43



## INDICE DE TABLAS, CUADROS Y FIGURAS

Cuadro 1	Análisis químico de la miel- - - - -	5
Tabla 1	Características morfológicas, de cultivo y de reprod.-	26
Tabla 2	Fermentación de carbohidratos en D1 y M1- - - - -	28
Tabla 3	Asimilación de compuestos de carbono en D1 y M1- - - -	28
Tabla 4	Análisis del hidromiel- - - - -	37
Tabla 5	Análisis de la cata del vino- - - - -	37
Figura 1	Fermentador rustico- - - - -	21
Figura 2	Medición de los grados de alcohol- - - - -	22
Figura 3	Curva de crecimiento a dif. pH de <i>Saccharomyces uvarum</i>	31
Figura 4	Curva de crecimiento a dif. pH de <i>S. exigus</i> - - - - -	32
Figura 5	Curva de crecimiento a dif. Temp. de <i>S. uvarum</i> - - - -	33
Figura 6	Curva de crecimiento a dif. Temp. de <i>S. exigus</i> - - - -	34

## I.- INTRODUCCION

### 1.1. Antecedentes e importancia

México es uno de los principales países productores de miel. Actualmente se usa la miel de abeja en la industria farmacéutica para la obtención de algunos medicamentos, en algunas operaciones quirúrgicas, más recientemente con efectos cicatrizantes rápidos por efecto de las enzimas naturales de la miel, también se usa en cosméticos para el cuidado de la piel. En tanto que en la industria alimentaria su uso ha sido tan bajo en la elaboración de galletas, repostería, confitería y en algunos cereales; debido a su alto costo en relación con otros edulcorantes utilizados por estas industrias.(22)

El vino de miel más comúnmente conocido como hidromiel es una de las bebidas más antiguas, se le llamaba "bebida de los dioses" por atribuirsele a éste como uno de los mejores vinos.

Esta bebida se elabora por simple dilución de la miel en agua con lo cual se facilita la fermentación por microorganismos, de los azúcares, no se dio cuenta sino hasta 1910 cuando se realizaron estudios de este fenómeno por primera vez en Nussbaumer, Suiza de que eran levaduras azúcar-tolerantes, las que provocaban la fermentación de la miel.(21)

Se han realizado experimentos hasta llegar a solucionar algunos problemas surgidos durante los procesos de fermentación, se ha comprobado que la adición de algunos minerales que son usados como alimento para el buen desarrollo de las levaduras ya que la miel contiene algunos pero en bajas concentraciones, agregados éstos a la diluciones de la miel así como la adición de zumo de algunas frutas lograndose así inoculos de levaduras propias de las frutas.(4)



El propósito de este trabajo fue el de aislar levaduras silvestres a partir de frutas, clasificarlas y caracterizarlas, encontrar las condiciones óptimas de crecimiento de pH y temperatura de las cepas y por último probar la producción de alcohol en el proceso de fermentación utilizando como sustrato de miel de abeja (*Aphis mellifera*) para la obtención de vino de miel o hidromiel.

## 1.2. Objetivos

Uno de los principales objetivos de este trabajo fue probar diversas especies de levaduras previamente caracterizadas en la inoculación de éstas para la producción de vino de miel, y de esta manera poder recomendar nuevas especies productoras de alcohol útiles en los proceso de vinificación. Otro de los objetivos del trabajo fue el encontrar las condiciones óptimas de crecimiento de pH y temperatura de las levaduras aisladas para de esta manera conocer y aplicarse en los fines deseados.

Promover también en nuestro país la industrialización de nuestra producción para obtener beneficios económicos e industrialización de la miel de abeja.

## II REVISION DE LITERATURA

### 2.1. La miel

La miel es una materia dulce, viscosa y aromática derivada del néctar de las plantas por la recolección de las abejas, modificado por ellas para alimento en un líquido denso y finalmente almacenado por ellas en sus panales; de reacción ácida, líquida en sus condiciones originales pero que frecuentemente llega a cristalizar; se compone principalmente de dos azúcares simples, dextrosa y levulosa; ocasionalmente contiene carbohidratos complejos, predominando frecuentemente la levulosa y siempre que no sea modificada por las manipulaciones del hombre contiene materias minerales, materiales colorantes vegetales e incluye granos de polen. (17)

Uno de los grandes problemas que aquejan al apicultor es la caída del precio de la miel en nuestro país y en algunos otros, la caída fue vertiginosa casi vertical en relación a los demás productos tanto de primera necesidad como también los de lujo, es preciso dejar claro que el precio en grandes partidas no el precio en frascos o envases en la tienda. (20)

La producción y riqueza del néctar varía con la clase de plantas y hasta para la misma planta con las condiciones en que se desarrolla, denominamos plantas melíferas generalmente a aquellas que son de utilidad al apicultor por su buena producción de néctar, pero en rigor esta denominación es algo equívoca ya que los vegetales no secretan miel sino néctar. (18)

Debido a su contenido de azúcares simples, la miel es una excelente fuente de energía. Puede considerarse como un buen alimento tanto para niños como para adultos.

### 2.1.1. Composición química de la miel

Por lo que respecta : al color, aroma y sabor, hay muchísimas variaciones en las mieles; esta circunstancia depende principalmente de las clases de flores utilizadas por las abejas en la recolección del néctar. Los distintos tipos de mieles presentan características distintas en su composición física y en su comportamiento químico. Si bien la variación en sabor y aroma constituyen en cierto modo, una ventaja porque puede satisfacerse el gusto diverso de los consumidores, la diferencia en el comportamiento químico significa dificultades en su selección, para obtener los resultados buscados en las distintas aplicaciones industriales.

La composición química de la miel es muy variada según los distintos tipos. Especialmente debe considerarse la variación del porcentaje de humedad que muchas veces depende de que se haya cosechado oportunamente. La miel esta suficientemente madura cuando ha sido operculada en los panales por las abejas y mejor si después de operculada ha permanecido algún tiempo en la colmena. La gravedad específica de una sustancia es la relación que existe entre su peso y el peso del mismo volumen de agua. Un decímetro cubico de agua o sea un litro, pesa 1,000 gramos; un litro de miel debe pesar, 1,412.9 g y esta es la gravedad específica señalada como aceptable para las mieles de grados A,B y fijada como norma por la Administración de Drogas y Alimentos puros de los Estados Unidos.(18)

El cuadro 1 nos muestra en términos generales, cuales son los componentes de la miel de abeja.

Cuadro 1

**ANALISIS QUIMICO DE LA MIEL**

Levulosa .....	41.00 %
Glucosa .....	34.00 %
Sacarosa .....	1.90 %
Dextrina .....	1.80 %
Cenizas .....	.18 %
Proteínas.....	.30 %
Nitrógeno .....	.04 %
Acido .....	.10 %
Humedad .....	17.00 %
Otros materiales .....	3.68 %

(21)

La dextrosa y levulosa son los principales azúcares de la miel, sin embargo en Europa, Estados Unidos y Japón han encontrado por lo menos 12 azúcares más, a saber maltosa, isomaltosa, turanosa, maltulosa, nigerosa, kojibiosa, leucrosa, melezitosa, erlosa, kestosa, rafinosa, dextrantriosa. La mayor parte de los azúcares probablemente no se hayan en el néctar, sino que se originan debido ya sea a la acción enzimática, durante la maduración de la miel o por acción química durante el almacenamiento en la mezcla concentrada.(18)

Los ácidos aunque casi insignificantes desde el punto de vista del peso tienen un efecto pronunciado en el sabor. Son también de la excelente resistencia de la miel hacia los microorganismos, los principales ácidos de la miel son el ácido glucónico, cítrico, málico, fórmico, acético, butírico, láctico, excalico,



succínico, tartárico, maleico, piroclutánico, pirúvico, alfa-ketoblutarico y glicólico.(9)

La presencia de proteínas hace que la miel tenga una tensión superficial más baja, lo que produce una marcada tendencia a formar espuma y nata y estimula la formación y retención de pequeñas burbujas de aire. Los aminoácidos más comunes son la prolina, ácido glutámico, alanina, fenilalanina, tirosina, leucina, e isoleucina.(21)

### **2.1.2. Propiedades de la miel**

La miel por su alto contenido en azúcares simples resulta ser un endulzante fácil de digerir por lo que representa ser excepcional en la alimentación de ancianos e infantes en los cuales el sistema digestivo funciona un tanto más lento.

**A).-Actividad antibacteriana de la miel.** Alguna vez se creyó que, puesto que la leche puede ser productora de algunas enfermedades, la miel podría igualmente serlo. Hace algunos años se trató de corroborar esta idea agregando nueve bacterias patógenas comunes a la miel, todas murieron en unas cuantas horas o días. La miel no es un medio conveniente para las bacterias por dos razones: es bastante ácida y contiene bastante azúcar para que puedan desarrollarse las bacterias.

**B).-Valores alimenticios de la miel.** Como alimento carbohidratado, la miel resulta sumamente apetitosa y agradable al paladar. Sus sabores característicos no pueden encontrarse en ninguna otra parte. Sus azúcares son en gran medida, los azúcares simples de fácil digestión similares a los de muchas frutas .(18)

### **2.1.3. Usos de la miel**

La miel tiene prácticamente poco uso como edulcorante por su elevado costo en relación a otros endulzantes limitandose mucho su uso en la industria alimentaria empleandose en pequeña escala en yogur con cereales, pastelerías y confitería; en la industria farmacéutico o medicina también tiene uso la miel de abeja pero un tanto limitados. (14)

### **2.2. Levaduras**

El hombre viene sirviendose de las levaduras desde hace muchos siglos para fermentar zumos de frutas, para esponjar el pan y para hacer sabrosos y nutritivos ciertos alimentos. Las levaduras están muy difundidas en la naturaleza, se encuentran en las frutas, los granos y otros materiales nutritivos que contienen azúcar, así como en el mismo suelo. (20)

#### **2.2.1. Morfología de las levaduras**

##### **a) forma**

Las levaduras presentan formas muy variadas desde las esféricas. ovoides y elipsoidales, la forma aunque variada es característica para clasificarlas.

##### **b) Tamaño**

También el tamaño varía mucho en las levaduras, pero puede medir entre 1 a 5 micras de ancho por 5 a 30 micras o más de longitud.

## **2.2.2. Reproducción de las levaduras**

### **a) Gemación**

La reproducción más común en las levaduras es la gemación, proceso asexual en el cual la célula progenitora emite un conducto tubular desde la vacuola nuclear hacia un punto periférico próximo a la misma. La célula madura puede producir por gemación durante el curso de su vida un promedio de 24 generaciones de células hijas.

### **b) Esporulación**

Reproducción sexual de las levaduras "verdaderas". El asca contiene las esporas de la célula y por lo general contiene de una a cuatro esporas pero a veces su número es de ocho o más. Las esporas se producen por división sucesiva del núcleo; cada núcleo así formado se rodea de material citoplasmático, y después por la pared celular.

### **c) Fisión binaria**

La fisión binaria, tipo de reproducción vegetativa o asexual en el cual las levaduras aumentan de tamaño o se alargan, el núcleo se divide y se originan dos nuevas células semejantes.

### **d) Gemación y Fisión combinadas**

Esta modalidad de reproducción de las levaduras se denomina gemiparidad y es intermedia entre la gemación y la fisión binaria que se ha descrito antes.

### 2.2.3. Fisiología de las levaduras

La formación de algunos productos como alcohol, ácidos, esteres, glicerina y aldehídos es de importancia práctica en microbiología.

Las levaduras crecen dentro de un amplio intervalo de temperatura, de 0 a 47 °C; sin embargo algunas no crecen por encima de los 15 °C, el óptimo para la mayor parte es de 20 a 30 °C, las variedades patógenas crecen bien entre los 30 y 37 °C. La tolerancia ácida varía según la especie o la raza entre un pH de 2.2. y 8.0

### 2.2.4. Levaduras patógenas

Existen algunas especies que pueden causar enfermedades en plantas y animales, la más importante en vegetales es *Nematospora coryli*. La causa más común en enfermedades por levaduras en el hombre es la *Candida albicans*, que produce con frecuencia infecciones de la piel, uñas y mucosa, el *Criptococcus neoformans*, causa una infección sistémica grave que afecta el cerebro y meninges. (20)

### 2.3. Hidromiel

El hidromiel es vino de miel, hecho cuando la miel es diluida y puesta a fermentar. El hidromiel es la primer bebida alcholica hecha por el hombre. Antiguamente los hombres en Europa y Africa, no contaban con azúcar y relativamente pocas frutas. La miel no solamente fue de primordial importancia como endulzante, pero sí fue de las pocas cosas de las cuales se pudo hacer una bebida alcholica, el hidromiel.

Otras denominaciones para el vino de miel o hidromiel son mead y mele. (19)



### **2.3.1.- Elaboración del hidromiel**

Existen muchas técnicas para la elaboración en cuanto a la adición de zumo de frutas, especiado o adición de especias, enriquecimiento con minerales, etc. pero todos los métodos se basan en el mismo principio, en el cual las levaduras atacan el azúcar resultando dióxido de carbono y alcohol.

La miel diluida en agua y colocada en un sitio a determinada temperatura adicionando previamente nutrientes útiles para las levaduras para un mejor crecimiento, desarrollo y por consecuencia una mayor formación de producto (alcohol), el proceso de la fermentación dura aproximadamente 3 semanas bajo condiciones de buen manejo. (3)

### **2.3.2.- Efecto del pH y temperatura**

El jugo de frutas y los vinos son soluciones ácidas, tienen un rango de pH de 3 a 4, la acidez posee un efecto selectivo, el pH bajo, propicia la fermentación maloláctica; por lo que es importante manejar rangos de acidez en procesos de vinificación bajos.

En tanto a la temperatura se sabe que a mayores temperaturas superiores a 25 °C, la transformación será más rápida pero aunado a ello se producen sabores no muy deseables; por lo tanto las temperaturas óptimas para la fermentación se sitúan entre 20 y 25 °C a sabiendas que la transformación es lenta a 15 °C y 30 °C y además puede ser impedida a los 30 °C. (7)

### 2.3.3. Acción de las levaduras.

Las levaduras osmofílicas llamadas así porque viven en soluciones con alta presión osmótica, tales como la miel, no crecen en soluciones de 30% de azúcar; por lo que es necesario diluir la miel en agua para facilitar su acción reduciendo hasta 19% de azúcar la miel aproximadamente.

En los diversos medios existen levaduras útiles y levaduras perjudiciales; *Saccharomyces oviformis* es capaz de alcanzar un alto grado de alcohol, *Saccharomyces rosei* no alcanza cantidades apreciables de acidez volátil, *Saccharomyces pobe* tiene la propiedad de hacer desaparecer el ácido málico y desacidificar el mosto.

La *Candida mycoderma* acompañada de *Pichia sp* hacen florecer los vinos, éstas se encuentran en gran cantidad en bodega de vinos. (13)

### III MATERIALES Y METODOS

Este trabajo se realizó en la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en las instalaciones del Laboratorio de Bromatología y Fitopatología; así como en el Laboratorio de Microbiología de suelos de la Facultad de Ciencias Biológicas.

La duración aproximada del trabajo fue de 10 meses iniciandose en septiembre de 1991 y concluyendo en junio de 1992.

Como objetivo principal de este trabajo fue el aislar diversas especies de levaduras silvestres, obtenidas de diversas frutas; identificación de género y especie, condiciones óptimas de pH y temperatura para su crecimiento y pruebas para fermentación de miel de abeja para la obtención de vino de miel.

Parte del material y equipo empleado en el desarrollo de esta investigación fue: matraces erlenmeyer de 250 ml, vasos de precipitado, matraces modificados (materiales erlenmeyer de 500 ml provistos de tubo de ensayo) cubre objetos, tubos de ensayo con y sin rosca, asa bacteriológica, tubo hueco de vidrio pyrex, manguera, tapones de hule, galones de vidrio oscuro, termómetros, potenciómetro, espectrofotómetro, secuioia ajustado a 600 nm, refractómetro manual, incubadora, estufa, autoclave, balanzas granatorias y analíticas, microscopios autoclave, densímetro, alcoholímetro, medio de cultivo selectivos, aceite mineral, reactivos diversos (Se especifica en el contexto), frutas diversas, levadura comercial para pan y cerveza.

### 3.1. Aislamiento

En la obtención de las levaduras silvestres, se maceró la fruta de la cual fueron aisladas, usándose durazno (*Prunus persica*) y melón (*Cucumis melo*), el jugo obtenido fue recolectado en un matraz al cual se le adicionó un 20% de azúcar como fuente de energía para asegurar un crecimiento exitoso de las levaduras, se dejó en fermentación durante 2 semanas y se tomó .1 ml de cada muestra para inocularse en tubos durham con ymb (extracto de malta 3 g., extracto de levadura 3 g, peptona 5 g, glucosa 10 g, agua destilada 1000 ml), adicionando 2 mg/lt. de penicilina, 3 % v/v de etanol a un pH de 4.5, después se incubó a 25 °C por 24 hr y de los tubos que presentaron mejor producción de gas se realizaron resiembras a cajas petri con YMA (extracto de malta 3 g, extracto de levadura 3 g, peptona 5 g, glucosa 10 g, agar-agar 23 g, agua destilada 1000 ml), se ajustó el pH a 4.5. y se incubó a 25 °C por 24 hr. De las colonias observadas a simple vista las cuales tenían características morfológicas de las levaduras se efectuaron resiembras por estría en 3 planos, hasta obtener colonias puras.

### 3.2. Identificación

Para identificar las levaduras obtenidas se basó en los trabajos de Lodder et al (1970), cultivadas en el medio de cultivo YMA.



### **3.2.1. Característica morfológicas**

Se realizaron tinciones simples y observaciones bajo microscopio con el fin de clasificar y reconocer en base a su morfología.

### **3.2.2. Características del cultivo microbiano**

#### **a) Formación de película en medio líquido.**

La siembra de cada una de las cepas, se realiza en medio líquido (YMB) contenido en tubos con rosca e incubadoras a 25 °C durante 24 hr para observar formación de película en el medio.

#### **b) Formación de sedimento en medio líquido**

En esta prueba se realizaron los mismos pasos que la anterior.

#### **c) Formación de anillo**

Para observar si forman anillo o no, se realizó también siembra en YMB igual que las dos anteriores.

### **3.2.3. Características reproductivas**

#### **a) Formación de pseudomicelio**

Diversos medios de cultivo se emplearon para asegurar la formación de esta estructura si son conformadas las cepas, empleando entre ellos el agar-jugo de tomate (V8) recomendado por Lodder et al (1970), el cual esta formado por 250 ml de jugo Campbell's (previamente filtrado), 3.75 g de carbohidrato de calcio y 23 g de agar-agar por cada 1000 ml de agua y el medio de cultivo YMA, sembrando cada una de las cepas en placas de Delmatus e incubando durante 5 días para posteriormente realizar la observación.

### **b) Formación de Ascosporas**

De igual manera se prepararon diferentes medios de cultivo formadores de ascas; entre ellos el V8, acetato de sodio recomendado por Salle (1942) que está constituido por 5 g de acetato de sodio, 10 g de cloruro de calcio, 23 g de agar-agar y 1000 ml de agua destilada, Gorodkova recomendado por Lodder et al (1970), el cual obtiene 10 g extracto de carne, 5 g de cloruro de sodio, 25 g de glucosa, 23 g de agar-agar y 1000 ml de agua destilada, Mc Clary's recomendado por Salle 1943 conteniendo 0.25 g, 1.8 g de cloruro de potasio 8.2 g de acetato de sodio, 1 g de glucosa, 23 g de agar-agar y 1000 ml de agua, Corn-meal-agar por cada 1000 ml de agua destilada. Las cepas fueron sembradas por estria en 3 planos en cada uno de los medios y posteriormente pasadas a incubación a 35 °C por 21 días tiempo razonable para la formación de ascosporas, después la visibilidad de las esporas en el microscopio.

### **3.2.4. Características Fisiológicas**

#### **3.2.4.1. Fermentación de azúcares**

En la realización de esta prueba se eligió un medio basal al cual se le añadió azul de bromotimol para que cambie a un verde tenue en pH de 7.5 ml del medio fueron adicionados 2 tubos durham previamente esterilizados añadiendose 1 ml esterilizado por filtración de 5% del azúcar en prueba, posteriormente se inoculó con la cepa de estudio e incubandose a 25 °C por 12 días para observar la producción de gas (Wickerham et al 1943).

#### **3.2.4.2. Asimilación de compuestos de carbono**

El mismo procedimiento fue utilizado para la prueba de asimilación de compuestos de carbono en un medio basal diferente, fueron adicionados los compuestos de carbono que se describen más adelante, el tiempo de incubación fue de 10 días a 25 °C, dando resultado positivo aquellas cepas que presentaron crecimiento en este tiempo (Beijerinck 1889).

La composición de los medios basales es la siguiente:

##### **a) Fermentación de azúcares**

Fosfato el medio basal para esta prueba fue 0.1 g de fosfato de amonio y 1000 ml de agua destilada.

##### **b) Asimilación de compuestos de carbono**

El medio basal para la asimilación de compuestos de carbono está constituido por 0.1 g de fosfato monopotásico, 0.5 g de sulfato de magnesio, 0.5 g de sulfato de amonio, 5.0 mg de ácido aspártico, 5.0 mg de asparagina, 5.0 mg de riboflavina y 1000 ml de agua destilada.

#### **3.3. Determinación de condiciones óptimas de crecimiento.**

El determinar las condiciones óptimas de crecimiento de las levaduras aisladas tanto de temperatura como del pH nos sirvió para calcular los tiempos de generación de las mismas, empleándose en ambos casos los matraces modificados y realizando lecturas de absorbancia en intervalos de tiempo en el espectrofotómetro. Los inoculos fueron preparados desde un día anterior en tubos con rosca conteniendo como medio de cultivo el YMB e incubándose a 25 °C durante 24 hr. (16)

### **3.3.1. Optimización del pH**

El primer parámetro determinado fue el pH óptimo por considerarse este óptimo el que sería ajustado al determinarse la temperatura óptima, se prepararon los matraces previamente esterilizados, cada uno con 8 ml de YMB a diferentes pH's 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, e inoculando con 2 ml del cultivo en estudio, cada matraz con su respectivo duplicado para hacer más representativo el resultado, se incubaron a una temperatura de 30 °C, se emplearon tiempo de lectura o medición de 30 min, durante 6 1/2 hr aproximadamente.

### **3.3.2. optimización de la temperatura**

Una vez conocido el pH óptimo de cada cepa se ajustó a éste el medio de cultivo antes de ser inoculado asegurando con ello la no interacción del pH en el crecimiento, las temperaturas que se probaron fueron 15 °C, 20 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C, 45 °C, de igual forma que el proceso anterior.

Se empleó la siguiente fórmula para determinar los tiempos de generación de cada cepa:

$$K = \frac{1}{t_g} = \frac{\log A_f - \log A_o}{(t_f - t_o)(0.301)}$$

Donde:

K=Es la constante de crecimiento (No. de duplicaciones por minuto)

t<sub>g</sub>= Constante de la velocidad de crecimiento instantáneo (tiempo de generación o duplicación)

A<sub>f</sub>= Es la lectura de absorbancia final del intervalo

A<sub>o</sub>= Es la lectura de absorbancia inicial del intervalo

(t<sub>f</sub>-t<sub>o</sub>)= Es la diferencia de tiempo entre las dos lecturas

Smith y Brock 1989

### 3.4. Elaboración del vino

Es preciso esterilizar el material y sustrato antes de ser adicionado el inóculo para tener plena seguridad que las levaduras inoculadas serán las únicas responsables de la fermentación de tal forma que los galones empleados como fermentadores, así como las válvulas de escape de CO<sub>2</sub> y el mosto fueron esterilizados y pasteurizados previamente.



### **3.4.1. Preparación del inóculo**

Las cepas aisladas e identificadas fueron activadas en medio YMB e incubadas a 30 °C por 24 hr, posteriormente se tomaron 20 ml de este inóculo para ser transferido a matraces también con medio líquido de 300 ml e incubándose también por 24 hr a 30 °C, una vez transcurrido este tiempo el inóculo quedó listo para ser usado en el mosto.

Para el caso del uso de las levaduras comerciales, por tratarse de cultivo liofilizados únicamente fueron diluidos previamente en agua estéril para reactivarlos y posteriormente se siguió el mismo procedimiento para la siembra en medio líquido (YMA).

### **3.4.2. Preparación del sustrato**

Primeramente se mezcló la miel con el agua hasta diluir completamente y calentando la mezcla a 60 °C, durante 15 minutos a fin de precipitar la proteína y destruir los microorganismos presentes, una vez enfriada se adicionó fosfato de amonio, urea y crémor tártaro, cabe mencionar que la mezcla se preparó en base a 1.6 k de miel por cada 4.5 l de agua y 4 g de cada uno de los nutrientes antes mencionados, posteriormente se ajustó el pH de la solución a 4.5 con una mezcla de ácido tártarico y ácido cítrico. (19)

### **3.4.3. Fermentación**

Después de envasó en galones provistos con válvulas acondicionadas para la fermentación y colocados para controlar la temperatura, se dejaron en reposo durante 21 días hasta terminar la fermentación (fig. No. 1, Pag 21).

### **3.4.4. Obtención del vino**

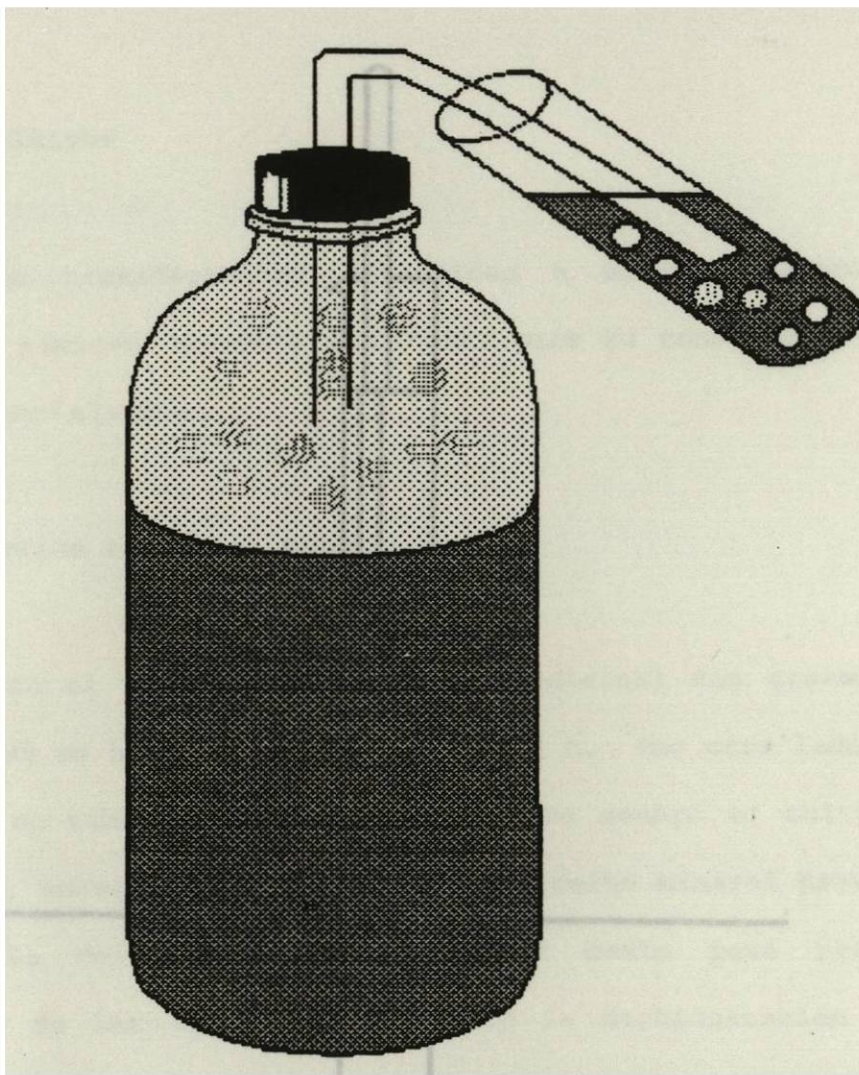
Una vez terminada la fermentación se colocó en refrigeración, realizando previamente un trasiego y filtrado del producto con el fin de precipitar y purificar el producto, nuevamente se realizó un trasiego para mejorar la limpidez del vino.

### **3.4.5. Análisis del vino**

Al producto terminado se le realizaron algunos análisis de evaluación como medición del contenido de alcohol (Ver fig. 2, Pag. 22), acidez total, pH, grados brix y algunas pruebas sensoriales como aroma, color, limpidez, amargor, dulzor y astringencia.

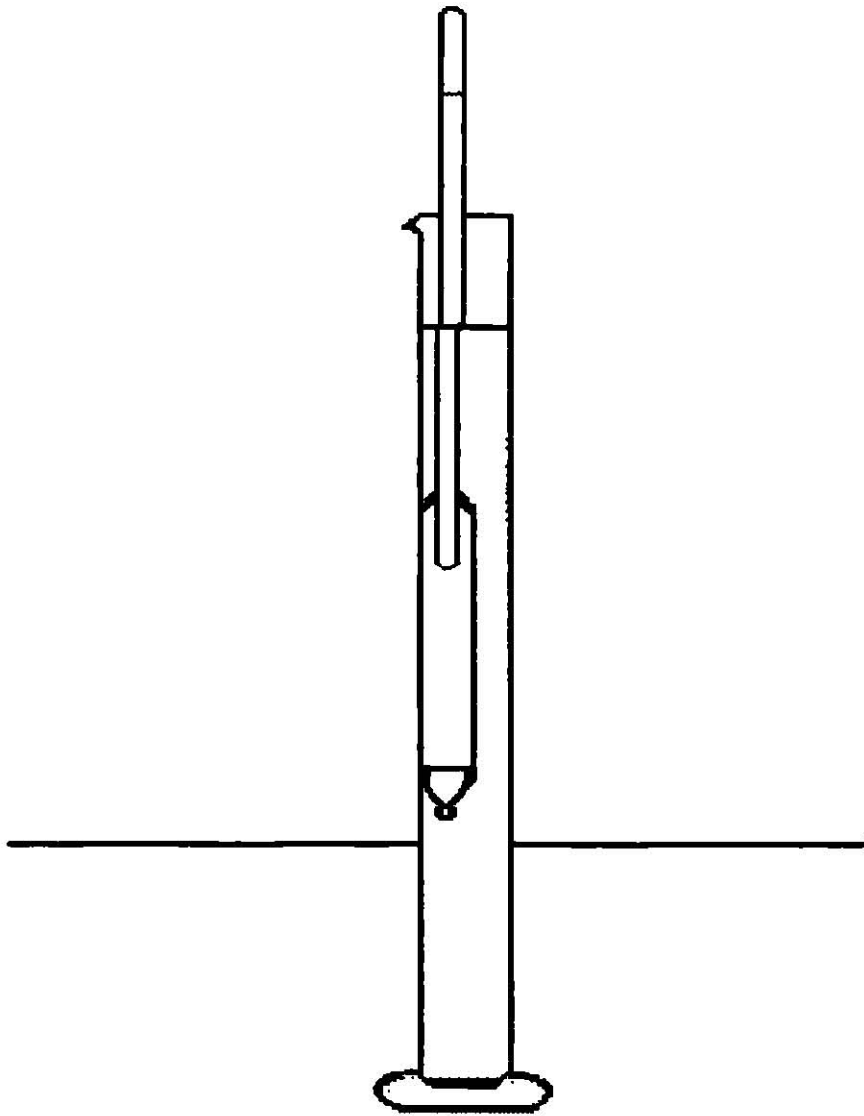
### **3.5. Conservación de las levaduras**

Los métodos empleados para la conservación de las levaduras son los denominados de corto tiempo Gherna, et al 1984. Los cultivos de las cepas deben de mantenerse íntegramente puros mínimamente durante su investigación.



**Fig. 1 Fermentador rustico provisto de valvula de seguridad.**

Fig . 2 Medición grados de alcohol



### **3.5.1. Subcultivos**

Se emplearon transferencias periódicas a medios frescos en tubos de YMA inclinado y almacenados de 3 a 5 °C, para su conservación. La transferencia se realizó mentalmente.

### **3.5.2. Inmersión en aceite mineral**

Se esterilizó el aceite mineral grado medicinal con gravedad específica entre 0.865 a 0.890 en horno a 170 °C durante 2 h. Por otro lado se preparó el medio de cultivo en tubos con YMA inclinado y se sembró el cultivo hasta obtener el crecimiento, enseguida fue adicionado el aceite mineral previamente esterilizado 2 °C arriba del extremo superior del medio para prevenir la actividad metabolismo de las levaduras, así como la deshidratación y contaminación del medio.

### **3.5.3. Secado**

#### **a) Suelo**

Este método es útil en microorganismos formados de esporas, se esterilizó el suelo contenido en frascos por otro lado se activó la cepa de interés en YMB y mezcladores en leche descremada diluída al 20% previamente esterilizada a 76 °C durante 20 m, de esta solución en los microorganismos y sus esporas se humedeció ligeramente el suelo y posteriormente fue llevado a un desecador donde permaneció entre 5 y 10 días a fin de eliminar el exceso de humedad, posteriormente se selló con tapones de hule estériles para ser conservados en refrigeración.

**b) Papel**

El mismo procedimiento que para suelo fue el empleado para el papel, en este caso se utilizó papel filtro cortado en pequeños cuadros antes de ser esterilizado para su posterior inoculación. (10)

## **IV RESULTADOS**

### **4.1.- Aislamiento**

Se seleccionaron las colonias que crecieron exitosamente en el YMA inoculado con los jugos de frutas, en función de características morfológicas, así como también se observó un color cremoso y en algunos casos la superficie rugosa de cuyas células presentaron formas variadas siendo estas: esféricas, elipsoidales y elongadas, sin duda por la edad las mismas.

Tomando de estas células cultivos puros, utilizando para esto resiembras en tres planos para purificar dichos cultivos.

### **4.2.- Identificación**

#### **4.2.1. Características morfológicas**

Se presentó variedad de forma, tanto en las colonias como en las células dentro de las mismas muestras; por lo que se aislaron aquellas que presentaron mejor crecimiento. Se emplearon denominaciones para facilitar el trabajo, a la cepa representativa del zumo del melón se le denominó M1, y a la levadura representativa del zumo del durazno se le denominó D1. La tabla 1 (Ver Pag. 26), muestra características morfológicas, fisiológicas y de reproducción para cada cepa, tanto de cultivo como de las células. Los resultados nos indican que las especies aisladas coinciden con las levaduras del género *Saccharomyces* spp.



**Tabla No. 1**

**Características morfológicas de cultivo y reproducción de diversas cepas.**

<b>D1</b>	<b>M1</b>	<b>PRUEBA REALIZADA</b>
<b>Características morfológicas</b>		
<b>Cr</b>	<b>Cr</b>	<b>Características de la colonia</b>
<b>o</b>	<b>C</b>	<b>Características de las células</b>
<b>Características del cultivo</b>		
<b>-</b>	<b>+</b>	<b>Formación de película en medio líquido</b>
<b>+</b>	<b>+</b>	<b>Formación de sedimento en medio líquido</b>
<b>-</b>	<b>-</b>	<b>Formación de anillo en medio líquido</b>
<b>Características de reproducción</b>		
<b>+</b>	<b>-</b>	<b>Formación de pseudomicelio</b>
<b>+ (1-4)</b>	<b>+ (1-4)</b>	<b>Formación de ascoporas</b>

- + Positivo**                      **+ (1-4) De una a cuatro**
- Negativo**                      **Cr Cremosa**
- o Ovoides**                        **C Cilíndricas**

#### **4.2.2.- Características del cultivo**

Las características del cultivo como lo fue el crecimiento en medio líquido (YMA), se hizo presente con las variantes descritas en la tabla 1, para el caso de la cepa del durazno se notaron colonias cremosas con células ovales, en tanto que para la cepa del melón se notaron también células cremosas con células cilíndricas. No se observó presencia de anillo para el caso de las dos cepas analizadas.

#### **4.2.3. Características reproductivas**

En ambos casos se observó bajo el microscopio el tipo de reproducción asexual por gemación característica del género *Saccharomyces sp.*, en tanto la producción o formación de pseudomicelio se notó únicamente en la cepa del durazno (D1) y ausente en la cepa de melón (M1). Las ascosporas se hicieron notar en ambos casos encontrándose de 1 hasta 4 de forma esférica por cada asca.

#### **4.2.4.- Características fisiológicas**

##### **4.2.4.1. Fermentación de azúcares**

Se emplaron los azúcares descritos en la tabla 2 y 3 (Ver Pag. 28), para observar la fermentación por las levaduras. Esta tabla muestra la fermentación de la glucosa, galactosa, sucrosa, maltosa, celobiosa, trealosa, lactosa melobiosa, rafinosa, inulina; la fermentación de estos azúcares se observa manifiesta en la tabla 2 Donde se observa que para D1 fue positiva la

**Tabla No. 2 Fermentación de carbohidratos en durazno (D1) y melón (M1)**

D1	M1	Fermentación del azúcar
+	+	Glucosa
+	+	Galactosa
+	+	Sucrosa
+	-	Maltosa
-	-	Celobiosa
+	+	Trealosa
-	-	Lactosa
+	-	Melobiosa
+	+	Rafinosa
-	-	Inulina

**Tabla No. 3 Asimilación de compuestos de carbono en durazno (D1) y melón (M1)**

+	+	Glucosa
+	+	Galactosa
+	+	Sucrosa
+	-	Maltosa
-	-	Celobiosa
+	+	Tréalosa
-	-	Lactosa
+	-	Melobiosa
+	+	Rafinosa
-	-	Manitol
-	-	Rammosa
-	-	Inulina
-	-	Xilosa
-	-	Arabinosa
-	-	Inositol

+ Positivo

- Negativo

fermentacion de glucosa, galactosa, sucrosa, maltosa, trealosa, melobiosa, rafinosa y negativa la fermentacion de celobiosa, lactosa e inulina, en tanto que para M1 se presento positiva la fermentación de glucosa, galactosa, sucrosa, trealosa y rafinosa y no presentando fermentación de maltosa, celobiosa, lactosa, melobiosa e inulina

#### 4.2.4.2.- Asimilacion de compuestos de carbono

La tabla 3, muestra la asimilación de los compuestos de carbono, en funcion de su crecimiento se utilizaron los compuestos: glucosa, galactosa, sucrosa, maltosa, celobiosa, trealosa, lactosa, melobiosa, rafinosa, ramnosa y manitol; y cuya asimilación de estos compuestos se describe en la tabla 3 (Ver Pag. 28). Donde se observa positiva la asimilacion para D1 de glucosa, galactosa, sucrosa, maltosa trealosa, melobiosa y rafinosa y no asimilando a la celobiosa, lactosa, manitol, ramnosa, inulina, xilosa, arabinosa e inositol. Para M1 presento positiva la prueba de asimilación de compuestos de carbono de glucosa, galactosa, sucrosa, trealosa y rafinosa, y negativa para la maltosacelobiosa, lactosa, melobiosa, manitol, ramnosa, inulina, xilosa, arabinosa e inositol; por lo cual se concluye con las pruebas bioquimicas de fermentación y asimilación de compuestos de carbono y se encuentra según Lodder que D1 se trata de *Saccaromyces uvarum* en tanto que M1 corresponde a *Saccaromyces exigus*

### **4.3.- Determinación de las condiciones óptimas**

#### **4.3.1. Optimización del pH**

En la figura No. 3, (pág. 31 ), se muestra la curva de crecimiento de *Saccharomyces uvarum*, obtenida a partir del zumo de durazno, la cual nos muestra un mejor crecimiento a un pH de 4.5, sin embargo la diferencia es mínima a la de los otros pH probados.

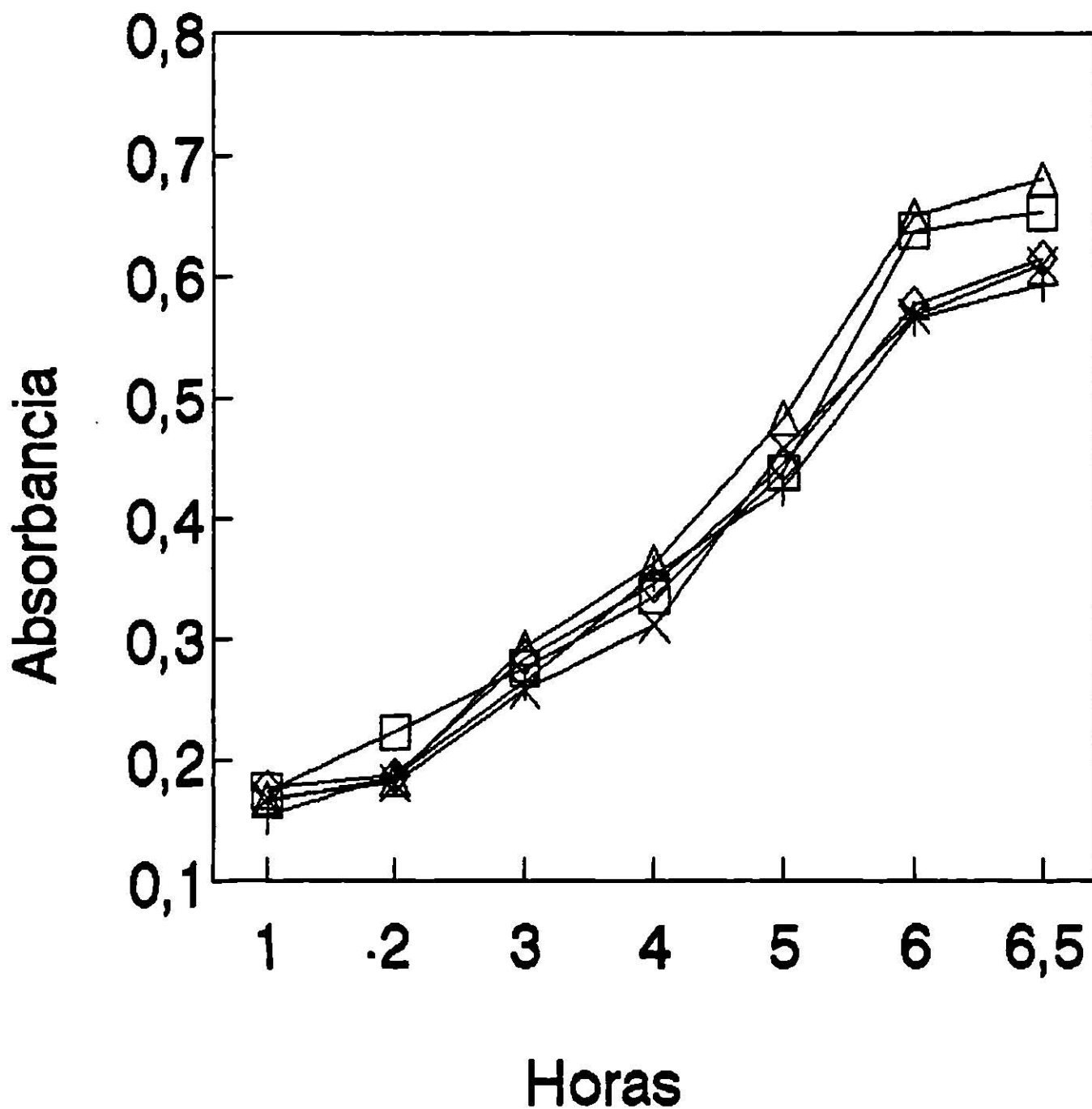
La figura No. 4, (pag. 32 ), presenta las curvas de crecimiento a diferentes pH's evaluados para la cepa de *Saccharomyces exigus*, aislada del zumo de melón, esta figura muestra resultados similares a la anterior.

#### **4.3.2. - Optimización de temperatura**

Enseguida se detalla las diferentes temperaturas a las que fue evaluado el crecimiento de la levadura de *Saccharomyces uvarum*, obtenida del zumo de durazno (ver figura No. 5, pag. 33 ), la cual nos muestra que el crecimiento fue mejor a 30 °C.

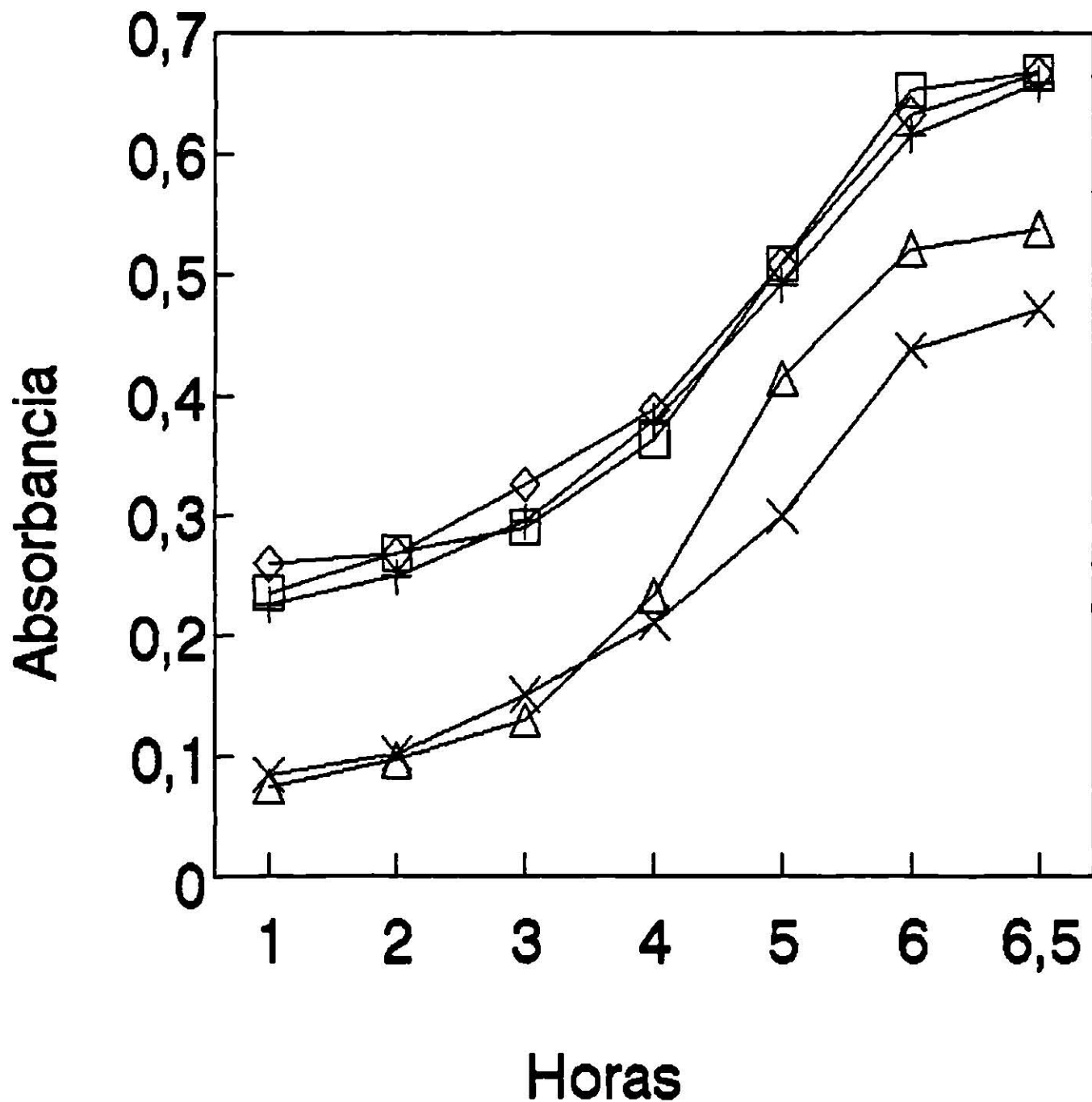
El crecimiento se dio de igual forma con buenos resultados a 30 °C para el caso de la levadura de *Saccharomyces exigus* obtenida del zumo del melón (Ver Fig. 6 Pag. 34)

# Curva de Crecimiento a Diferente pH – *Saccharomyces uvarum* –



□ pH 6.0 + pH 5.5 ◇ pH 5.0 △ pH 4.5 × pH 4.0

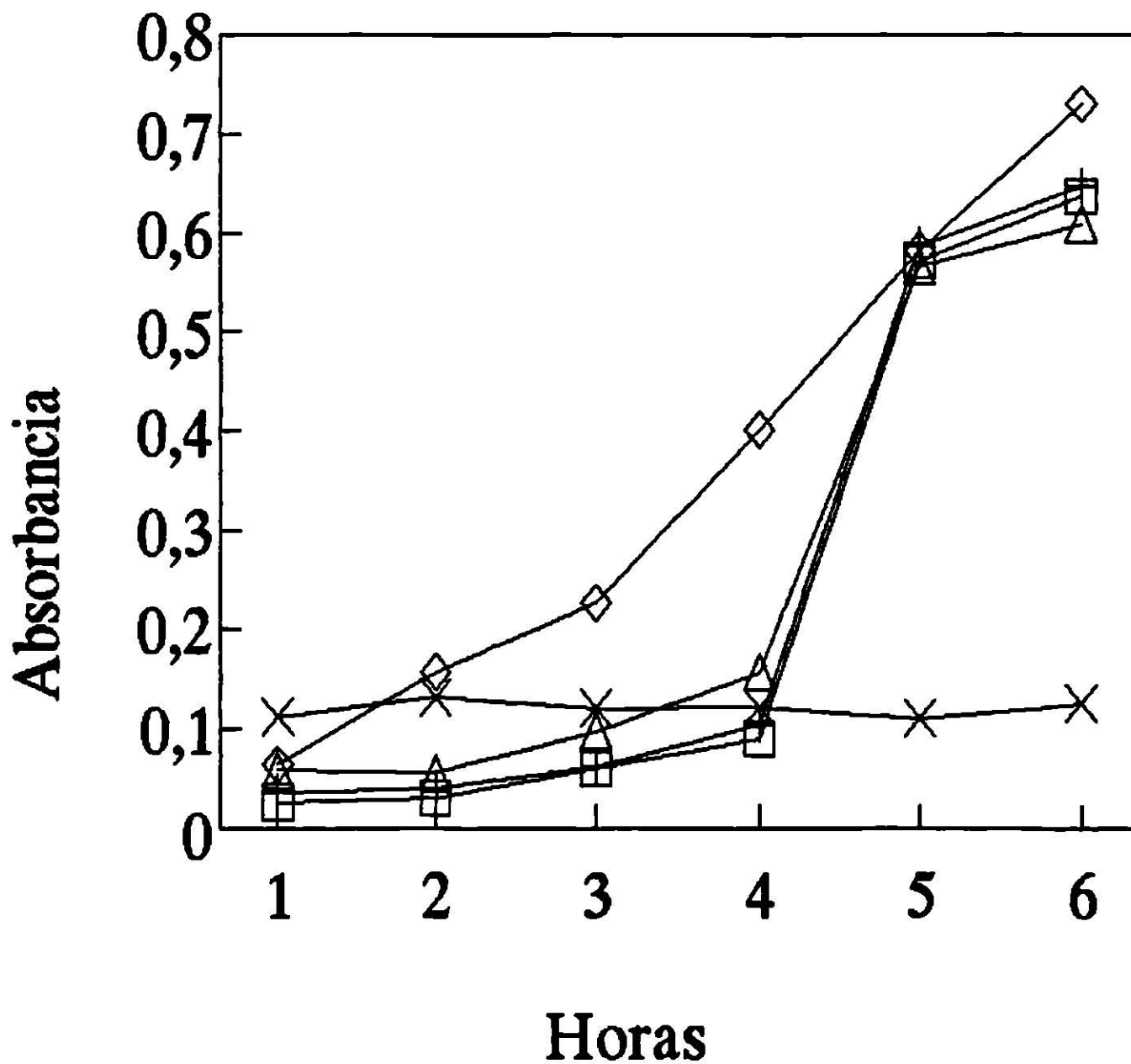
# Curva de Crecimiento a Diferente pH – *Saccharomyces exigus* –



□ pH 6,0 + pH 5,5 ◇ pH 5,0 △ pH 4,5 × pH 4,0

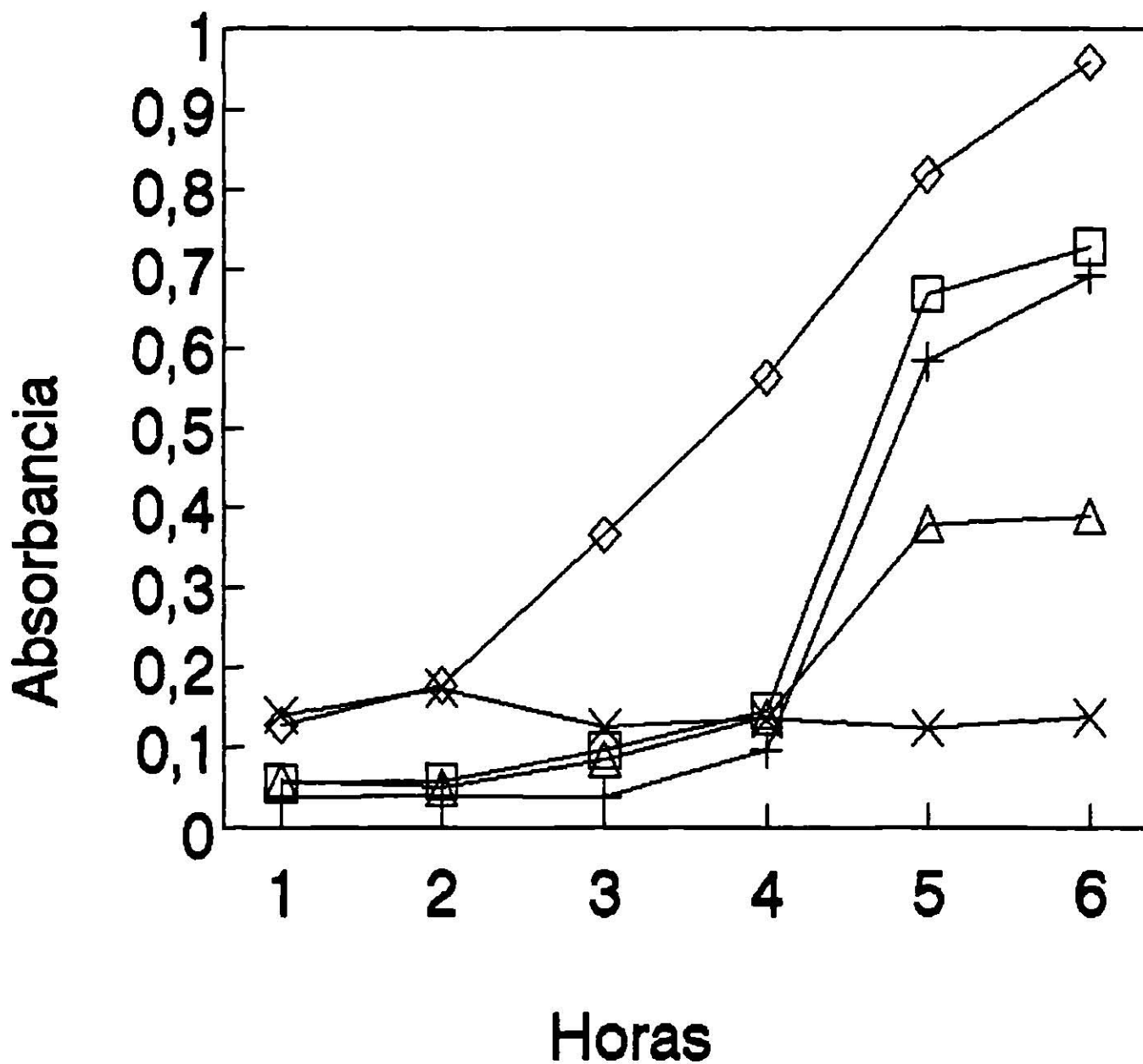


# Curva de Crecimiento a Diferente Temp. – *Saccharomyces uvarum* –



□ Temp 20 C° + Temp 25 C°    ◇ Temp 30 C°  
△ Temp 35 C°    × Temp 40 C°

# Curva de Crecimiento a Diferente Temp. – *Saccharomyces exigus* –



□ Temp 20 C° + Temp 25 C° ◇ Temp 30 C°  
△ Temp 35 C° × Temp 40 C°

#### **4.4.- Elaboración del vino**

##### **4.4.1. - Preparación del inocular**

Para la preparación del inocular, ésta se realizó según la metodología del Dr. Morse, sin alguna modificación relevante.

##### **4.4.2.- Preparación del sustrato**

Es importante mencionar que las mieles extraídas de las diferentes flores varían en cuanto a sus características físicas y químicas lo cual repercute en el sabor final del vino principalmente en el sabor según Morse es recomendable las mieles de sabor suave para los procesos de vinificación y para este estudio se empleó la miel de abeja obtenida del néctar de las flores del mezquite por considerarse una de las mieles más suaves.

##### **4.4.3.- Fermentación**

El término de fermentación se alcanzó cuando la válvula (tubo con agua), dejó de burbujear, lo cual se presentó entre los 20 y los 21 días cesando completamente el burbujeo o desprendimiento de CO<sub>2</sub>; presentándose intenso burbujeo a partir del 2o. día de inoculados los sustratos.

Se prepararon galones con sus respectivas repeticiones a fin de evitar pérdidas por posibles contaminaciones, estos galones fueron provistos de válvulas de seguridad para evitar la contaminación y observar el término de la fermentación.

#### **4.4.4.- Obtención del vino**

Al término de las fermentaciones se notó ligeramente turbio el contenido, por lo cual fue necesario filtrar y refrigerar para precipitar y poder realizar trasiego para eliminar los sedimentos formados.

#### **4.4.5. Análisis del vino**

El contenido de alcohol, acidez total, pH, grados brix, y densidad se exponen en la tabla 4 (pag. 37). En cuanto a la producción de alcohol se observa superiores la producción para las levaduras comerciales y en termino medio las levaduras aisladas, la densidad se mantuvo uniforme, la acidez total se observo ligeramente superior para el caso de las dos levaduras aisladas en tanto que para las comerciales se vió mas baja y en cuanto la medición de los grados brix se observó mas azúcar en las dos levaduras aisladas y marcadamente mas baja la concentración en Wl como era de esperarse debido a su más alta conversion en alcohol.

En cuanto al análisis sensorial o cata del vino de evaluaron con 10 panelistas para observar aroma, color, limpidez, amargor, dulzor, y astringencia lo que nos dio los resultados expuestos en la tabla 5, (pag. 37), evaluados del 1 al 5.

**Tabla 4 ANALISIS DE HIDROMIEL INOCULADAS CON DIVERSAS ESPECIES DE LEVADURAS**

Inoculo	Alcohol	Densidad	Acidez total	Grados Brix (°B)
M1	3,50	0,99	2,30	20,00
D1	4,00	0,99	2,70	18,00
W1	9,00	1,00	1,50	6,80
C1	8,50	1,00	1,70	10,50
P1	8,50	1,00	1,70	10,80
Testigo	2,50	--	2,50	20,05

M1= Ceps de melón  
D1= Ceps de durazno

W1= Levadura para vino  
C1= Levadura para cerveza

P1= Levadura para pan

**Tabla 5 ANALISIS DE LA CATA DEL VINO DE MIEL INOCULADO CON DIVERSAS ESPECIES DE LEVADURAS**

Inoculo	Aroma	Cuerpo	Limpidez	Dulsor	Amargor	Astringencia
M1	2	3	2	5	2	2
D1	3	2	2	4	2	1
W1	4	4	4	3	2	1
C1	3	4	4	3	1	1
P1	3	3	4	3	1	1
Testigo	2	3	2	5	5	5

- (1)= Nada
- (2)= Bajo
- (3)= Medio
- (4)= Bueno
- (5)= Fuerte

El aroma se notó en terminos generales entre medio y medianamente pronunciado con muy bajo para el caso de M1, en cuanto al cuerpo del vino se noto bueno para W1 y C1 en tanto para el resto de las muestras se mantuvo entre bajo y medio, la limpidez fue buena únicamente para las levaduras comerciales y baja para las aisladas, el dulzor se observó medio para las levaduras comerciales y algo fuerte para las aisladas, el amargor se notó en terminos generales entre bajo y nada, únicamente para el testigo fue muy pronunciado y en cuanto a la astringencia que es un de los defectos de los vinos se observó practicamente nula unicamente para el caso del testigo si se dejó sentir.

Para las pruebas de fermentación se utilizaron algunas levaduras conocidas como fue el caso de *Wickerhamia sp.* (W1), levaduras comerciales para pan (P1) y levadura para cerveza (C1); también se utilizó un testigo al cual no se le adicionó ninguna levadura dejándolo fermentar en forma natural.

#### **4.5.- Conservación de las levaduras**

##### **4.5.1.-Subcultivos**

Este método de conservación se empleo durante el desarrollo del experimento únicamente ya que existen riesgos de contaminación y alteración y además el manejo constante de las levaduras puede provocar alteraciones de la cepa; por lo que durante el trabajo se utilizó este método.

##### **4.5.2.- Inmersión en aceite mineral**

El método de inmersión en aceite mineral se utilizó también a través del experimento a efecto de tenerlo en reserva para posibles pérdidas o contaminación de las cepas en estudio, mismas que se dejaron en el cepario de la

FAUANL para posteriores transferencias, ya que este método también es considerado como un método de conservación a corto plazo.

#### **4.5.3.- Secado**

Tanto el secado en suelo como en papel se guardó para las levaduras indentificadas, considerando que este método de conservación las permanece viables e inalterables durante 1 o 2 años, razón por la que se decidió conservar las cepas por este método.



## V CONCLUSIONES

Del presente trabajo podemos concluir que es posible fermentar la miel de abeja para la obtención del vino de buena calidad diversificando la producción de otros vinos en las industrias vinícolas en México.

La temperatura es un factor decisivo en la producción de sabores desagradables en los vinos; por lo que se debe controlar estrictamente para evitar sabores astringentes en los vinos, para este caso se acondicionó un cuarto en el cual se pudo controlar baja la temperatura así como la penetración de luz que también afecta en el color del vino.

La mezcla de levaduras en un proceso de fermentación aumenta la producción de alcohol en el producto terminado, tal efecto se mostró cuando se emplearon las mezclas de levaduras comerciales obteniendo de éstas un mejor rendimiento de alcohol durante la fermentación, sin embargo el hecho de trabajar con levaduras comerciales no identificadas puede provocar fermentaciones indeseables y las levaduras plenamente identificadas pueden ser controladas con mayor facilidad sus procesos.

Es muy importante controlar los factores que afectan el aroma y sabor del vino ya que en gran medida depende de esto la calidad del vino.

## VI RECOMENDACIONES

El seguimiento de otras variantes en la fermentación para la obtención del vino de miel puede modificar los resultados obtenidos es importante realizar algunas variables con fines comparativos a fin de mejorar el producto final.

Es importante en cuanto a la conservación de las cepas pasarlas a métodos de conservación a largo plazo como el liofilizado por ser éste uno de los más eficientes y mantenerlas inalterables por más tiempo para tener a estas cepas viables para estudios posteriores.

Se recomienda según la experiencia adquirida en esta investigación aislar más levaduras silvestres y caracterizarlas, probar la producción de alcohol para cada una de ellas y seleccionar las que mayor producción de alcohol tengan, hacer mezclas de éstas para ser inoculadas a la miel de abeja ya que los resultados obtenidos en cuanto a la producción de alcohol fueron relativamente bajos y además la miel es un sustrato muy rico en azúcares quedando gran cantidad de éstos sin desdoblarse a alcohol.

## VII RESUMEN

Se realizó el aislamiento y caracterización de las levaduras silvestres obtenidas de durazno y de melon empleandose como caldo nutritivo el YMA presentandose buen crecimiento de levaduras, las levaduras caracterizadas e identificadas pertenecen al genero *Saccharomyces sp.* lo cual indica que las levaduras pertenecientes a este genero son las mas abundantes en las frutas analizadas.

Con fines comparativos de producción de alcohol empleando como sustrato la miel de abeja diluida y fortificada con minerales para la obtencion de vino de miel se emplearon levaduras liofilizadas para la producción de vino, pan y cerveza las cuales observadas bajo el microscopio presentaron formas muy variadas de las colonias y células de lo que se dedujo que se trataba de mezclas de varias especies; sin embargo éstas fueron las que mejor producción de alcohol tuvieron. El vino obtenido en general puede apreciarse de sabor dulce lo cual indica que el proceso de fermentación de los azúcares quedó inconcluso, existiendo aún azúcares residuales.

## VIII BIBLIOGRAFIA

- 1.- Berry, C.J.J. 1987 Wine making 8ava edición Editorial Argus Brooks.
- 2.- Bianchi E.M. 1986 Control de calidad de la miel. Universidad Nacional de Santiago del Estero. C.E.D.I.A. Argentina
- 3.- Blakebough, N 1977. Biochemical and Biological Engineering Since Academic. Press Inc. N.Y. p 27-29
- 4.- Bowen J.F. 1982. Technology of wine making. The Avi Publishing Company Inc. U.S.A.
- 5.- Desrosier, N.W. 1983. Elementos de Tecnología de los Alimentos 5ta edición editorial C.E.C.S.A. México
- 6.- Escamilla, H.M.L. 1984. Tecnología de alimentos Vol. 19 ATAM México, D.F. p 4-6
- 7.- Frazier, W.c. 1985 Microbiología de los alimentos Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.
- 8.- Galan, W.L.J., G.G. Morales 1991. Manual de Microbiología Industrial. Fac. de Ciencias Biológicas U.A.N.L. San Nicolas de los Garza N.L. Mex. P 2-12
- 9.- Gallegos, M.G. 1980. Aislamiento e Identificación de levaduras que crezcan sobre etanol para ala produccion de biomasa. Tesis de Licenciatura de la Facultad de Biología de la U.A.N.L. San Nicolas de los Garza N.L. Mex.
- 10.- Heckly R.J. 1978 Preservation of microorganism U.S.A. p 50-52
- 11.- Johnson, A.H. y Peterson M.J. 1974 Food Technology Vol. 2 The Avi Publishing Company Inc. Westport Conecticut U.S.A.

- 12.- Jonhston, J.B. 1989. Mele 5ta edición. Iowa State University p 41
- 13.- Jorgensen A. 1979. Microbiologia de las fermentaciones industriales 7a edición Editorial Acribia Zaragoza España
- 14.- Kelly, W.T. 1983. How to Keep Bees and Sell Honey. Printed in Clarkson Kentucky. U.S.A.
- 15.- Kestascemar, H 1971 Levaduras y Alcoholes. Editrial Reverte Berlin p 9-11, 23
- 16.- Lodder, J 1980 The Yeast 3er impresion North Holland Publishing Co. U.S.A. p 595- 600
- 17.- Mace H 1979. La abeja, la colmena y el apicultor. Barcelona España.
- 18.- Mc Gregor, S.E. 1984. Beekeeping in the U.S.A. The Hand Book Washington. D.C. p 59-66
- 19.- Morse,A.R. 1980. Making mead ( Honey wine ). Wicwaspress Ithaca N.Y. p 11-13
- 20.- Pelczar M.J. Microbiologia 4a edición. Editorial Mc Graw-Hill México p 211-213, 222
- 21.- Root, A.I. 1979. ABC y XYZ de la apicultura 10 edición Ohio U.S.A. p 362-365
- 22.- Sintes, P.J. 1985. Virtudes curativas de la miel y polen 1a.



