

Universidad Nacional Autónoma de México

00381
rej
8

Facultad de Ciencias

ESTUDIOS ÉTNICOS, MICROBIANOS Y QUÍMICOS DEL TEGÜINO
TARAHUMARA

Tesis

Que para obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIAS (BIOLOGÍA)

Presenta

Patricia Ester Lappe Oliveras

México, D.F.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1988



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	5
MATERIALES Y MÉTODOS	27
Elaboración del tesgüino	27
Medición de parámetros fisicoquímicos	30
Obtención de muestras	31
Determinación de la microbiota	32
Estudios químicos	34
Análisis bromatológicos	34
Proteína	34
Cenizas, grasa cruda y contenido de humedad .	34
Determinación de vitaminas	35
Niacina	35
Riboflavina	35
Determinación de ácido láctico, ácido acético, metanol y etanol	35
Determinación de la actividad amilolítica de las cepas de mohos aisladas de los granos de maíz y de la liga	36
Determinación de la actividad enzimática de la liga	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	62
Cambios en la temperatura y humedad relativa ambien tales, y en la temperatura del sustrato	61
Cambios en el pH y en el contenido de humedad del sustrato durante las diferentes etapas de elabora ción del tesgüino	63

Principales cambios físicos, químicos y fisiológicos que se presentan durante la germinación de los granos de maíz	65
Sucesión de la microbiota durante la elaboración y fermentación del tesgüino	66
Resultados de los análisis bromatológicos	85
Cambios en el contenido de ácido láctico, ácido acético, etanol y metanol durante el proceso de elaboración y fermentación del tesgüino	90
CONCLUSIONES	153
BIBLIOGRAFÍA CITADA	154

RESUMEN

El tesgüino es una cerveza de maíz que consumen diversos grupos étnicos del norte, noroeste, oeste y, en menor proporción, del sur de México, como los yaquis y pimas de Sonora, los tarahumaras y tubares de Chihuahua, los guajirios de Chihuahua y Sonora, los tepehuanes de Chihuahua, Durango y Jalisco, los huicholes de Jalisco y Nayarit, y los zapotecas de Oaxaca.

Para los tarahumaras, al igual que para otros grupos étnicos como los huicholes, el tesgüino constituye la bebida preferida en sus eventos sociales, festividades religiosas y deportivas, y en las llamadas tesgüinadas, que son reuniones en las que se toman decisiones políticas y económicas importantes para la comunidad, o en las que se realizan trabajos o labores difíciles que requieren de la participación comunitaria de los hombres, la que es remunerada con tesgüino y comida. Así, el tesgüino es empleado como una forma de pago, bebida embriagante y vehículo para la administración de diversas plantas medicinales; además, mezclado con leche materna o diluido con agua, es consumido por lactantes y niños por lo que puede considerársele como un complemento importante de su dieta.

El proceso de elaboración de la bebida varía de un grupo étnico a otro, aunque generalmente se hace con granos de maíz germinados en la oscuridad, que son molidos en metate y cocidos en suficiente agua durante varias horas hasta obtener un atole amarillento que, una vez frío, se cuela. El líquido recuperado se vacía en ollas tesgüineras, se le adiciona el catalizador o fortificador y se deja fermentar de 1 a 10 días o más, dependiendo del

gusto de los consumidores. Es importante señalar que las ollas tesgüíneas nunca se lavan por lo que presentan adheridos a sus paredes residuos de fermentaciones previas. El tesgüino no se filtra ni pasteuriza por lo que contiene los microorganismos que producen la fermentación, las sustancias metabolizadas por ellos y los residuos de los vegetales utilizados.

El tesgüino ha sido objeto de numerosas investigaciones sociales, étnicas y antropológicas, que se iniciaron desde hace algunos siglos, pero sólo recientemente se ha comenzado a estudiarlo desde los puntos de vista microbiano y químico. Las primeras investigaciones microbiológicas fueron realizadas por Herrera y Ulloa en 1973, quienes aislaron las levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia membranaefaciens* y *Candida valida* de tesgüino de maíz, y la bacteria *Bacillus megaterium* de tesgüino de jugo de maguey, ambas bebidas procedentes de la Sierra Tarahumara. Estos estudios fueron realizados en muestras de tiempo de fermentación desconocido, por lo que se ignoraba en qué etapa del proceso de fermentación aparecían los microorganismos mencionados, y cuál era su papel en dicho proceso. Para resolver estas incógnitas se planteó la presente investigación, que tuvo como objetivos establecer la sucesión de la microbiota durante las diversas fases de elaboración y fermentación del tesgüino, determinar el papel del catalizador (espigas de *Bromus arizonicus*) y del sedimento de la olla en la fermentación de la cerveza, evaluar los principales cambios químicos y bromatológicos que ocurren durante el proceso de fermentación y establecer el tipo de fermentación que se lleva a cabo y, por último, determinar cuáles son los microorganismos esenciales en el proceso de fermentación.

Los mohos que se encontraron en mayor porcentaje en el maíz fueron *Eurotium rubrum*, *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*, *Penicillium echinulatum* y *Rhizopus arrhizus*, los que fueron eliminados junto con otros microorganismos presentes en los granos durante la cocción de la malta.

Los primeros microorganismos que se manifestaron en el atole cocido, colado y frío fueron especies de bacterias homo y heterolácticas (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Streptococcus*), que persistieron a lo largo del proceso de fermentación, incrementando sus poblaciones paulatinamente. A ellas se debió primordialmente la producción de ácido láctico y ácido acético, productos que confieren a la cerveza algunas de sus características distintivas como son su sabor refrescante, ligeramente ácido y picante.

Las especies de levaduras más constantes y abundantes durante las diversas etapas de fermentación de la cerveza fueron *Candida guilliermondii*, *Hansenula anomala*, *Saccharomyces cerevisiae* y *S. kluyveri*, aunque se presentaron otras. De ellas, las levaduras fermentadoras activas fueron las especies de *Saccharomyces*, que produjeron un incremento en el contenido de alcohol, mientras que las otras especies, que son predominantemente oxidativas, formadoras de película y productoras de ésteres, contribuyeron a dar a la cerveza turbidez, aroma y sabor.

Todos estos microorganismos estuvieron involucrados en el proceso fermentativo del tesguino y llevaron a cabo simultáneamente una fermentación láctica-alcohólica, seguida de una alcohólica-acética.

De las especies de levaduras aisladas del tesguino, *Brettano-*

myces intermedius, *H. anomala* y *S. cerevisiae* fueron encontradas en el sedimento de la olla, por lo que éste constituye una fuente importante de inóculo para la fermentación. A partir del catalizador o liga únicamente se aisló *C. guilliermondii*, por lo que se piensa que, más que una fuente de inóculo, desempeña otra función en la fermentación activa de la bebida, por ejemplo como fuente de enzimas, fenilaminas o factores de crecimiento.

Durante la fermentación del tesgüino se registraron cambios en la concentración de proteínas (incremento neto de 58.02%), y de ácido láctico, ácido acético y etanol, los que respectivamente alcanzaron concentraciones de 0.46, 0.10 y 3.73%. Estos resultados indican que el tesgüino no sólo constituye una bebida embriagante sino un complemento alimenticio y fuente de calorías importante para los grupos indígenas que habitualmente lo consumen.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos precolombinos el maíz ha sido el eje principal de las culturas americanas, y aún en la actualidad tiene una relevancia significativa en la alimentación de la mayoría de las poblaciones de los países latinoamericanos.

En México, este cereal es consumido primordialmente en forma de tortillas, aunque también es utilizado por diversos grupos étnicos como materia prima para la elaboración de alimentos y bebidas fermentados, que son consumidos con fines de alimentación, religiosos, estimulantes y medicinales (Cruz Ulloa y Ulloa, 1973; Ulloa, 1981).

La elaboración de estos productos está basada en recetas que han sido transferidas por generaciones, y en su proceso de fermentación intervienen microorganismos, principalmente levaduras y bacterias, que la mayoría de las veces producen, por medio de enzimas, cambios favorables en el producto final, como variación en la textura, aroma y sabor, aumento en el tiempo de almacenamiento (preservación) y mejoramiento de las propiedades nutritivas, debido al aumento de proteínas y vitaminas (Hesseltine, 1979; Hesseltine y Wang, 1980).

Entre estos productos fermentados está el tesgüino, del náhuatl *tecuín*, latir el corazón (Robelo, 1948), que es una cerveza opaca, de consistencia espesa, consumida por grupos indígenas del norte, noroeste, oeste y, en menor proporción, del sur de México, como los yaquis y pimas de Sonora, los tarahumaras (Figs. 3, 5) y tubares de Chihuahua, los guajirios de Chihuahua y Sonora, los tepehuanes de Chihuahua, Durango y Nayarit, los huicholes de Ja-

lisco y Nayarit (Fig. 4), y los zapotecas de Oaxaca (Lumholtz, 1902; Bennett y Zingg, 1935; Pennington, 1963, 1969; Service, 1969; Spicer, 1969; Cruz Ulloa y Ulloa, 1973).

El tesgüino es una cerveza (entendiendo por cerveza toda aquella bebida alcohólica elaborada a partir de un sustrato amiláceo, que requiere de la conversión inicial de los carbohidratos complejos en azúcares simples antes de su fermentación) que desempeña un papel muy importante en la vida social y económica de algunas de las comunidades indígenas mencionadas, pero muy especialmente en la tarahumara. En el cuadro 1 se enlistan varias de las principales cervezas que se consumen en otras partes del mundo y que, como el tesgüino, también tienen importancia en la dieta, en la administración de medicamentos, y para otros fines.

Los tarahumaras, o *rarámuris* (que etimológicamente significa "planta [del pie] corredora", González, 1985), como ellos mismos se denominan, son un grupo aborigen de la familia lingüística uto-azteca, que habita en la zona sur occidental del estado de Chihuahua. Su población, de aproximadamente 50,000 individuos, está dispersa en un territorio de unos 50,000 Km², ocupando tanto la región montañosa como la barranqueña de la Sierra Tarahumara (Pennington, 1963; González, 1985). Debido a la difícil topografía del terreno, el patrón de asentamiento que predomina es el de pequeñas rancherías aisladas, localizadas en los espacios de tierra disponible para la agricultura. En este tipo de organización social la unidad básica la constituye la familia, que se encarga de realizar todas las labores cotidianas y que trata de ser autosuficiente.

Por lo general los ranchos se agrupan geográfica y política-

mente, constituyendo unidades denominadas pueblos, en cuyo seno se realizan generalmente las ceremonias religiosas y los eventos políticos. Sin embargo, la comunidad funcional de la unidad familiar la constituyen las rancherías de los alrededores con las que se relaciona mediante el trabajo cooperativo recíproco y participaciones conjuntas en festividades religiosas y deportivas. En todos estos eventos, así como en las reuniones políticas, el tesgüino no está presente, desempeñando un papel importante tanto a nivel social, porque actúa como elemento de cohesión de la comunidad, como a nivel económico, pues representa una forma de pago del trabajo comunitario (tesgüinada de trabajo), y a nivel religioso, ya que es considerado una bebida sagrada, donada a los tarahumaras por el dios *onoruame*, que debe estar presente como parte integral en todas las ceremonias religiosas (Bennett y Zingg, 1935; Pennington, 1963; Kennedy, 1963, 1978; Merril, 1978).

Se desconoce la fecha precisa a partir de la cual los tarahumaras comenzaron a elaborar esta cerveza. Sin embargo, según la relación Guaguachic de 1777 (en Pennington, 1963), durante la estancia de los jesuitas y franciscanos (siglo XVIII) en la región tarahumara, dicha bebida era preparada y consumida frecuentemente. El proceso de elaboración actual de esta cerveza varía de una región y época del año a otra, utilizándose diversas plantas como materias primas (maíz, trigo, sorgo, jugo de caña de maíz, jugo de hojas de maguey, bayas de madroño, diversas frutas) y catalizadores o fortificadores (Cuadro 2), por lo que puede considerarse que existen varias modalidades de tesgüino, con diferentes nombres de acuerdo a los productos vegetales utilizados en su elabo-

ración. Sin embargo, el tipo más común de tesgüino, el denominado *sugiki* (maíz) o *bátari* (corteza), se elabora con granos de maíz germinados (de preferencia suave, aunque también puede utilizarse el duro) siguiendo el procedimiento indicado en el diagrama de flujo 1.

Los catalizadores o fortificadores empleados son fragmentos o savia de plantas existentes en la región (Cuadro 2), que tienen como función acelerar el proceso de fermentación (ya sea porque representan una fuente de microorganismos fermentadores, porque proporcionan factores de crecimiento, como vitaminas, necesarios para los microorganismos, o porque regulan en forma selectiva el crecimiento de las diferentes poblaciones de microorganismos) o fortificar la bebida mediante el incremento en el contenido de alcohol, o mediante la introducción de sustancias intoxicantes o alucinógenas, haciendo su consumo más placentero, según los consumidores (Bruman, 1949, en Litzinger, 1983; Pennington, 1963). De los catalizadores mencionados, los más frecuentemente empleados en las zonas altas de la sierra son *Bromus arizonicus* (Shear) Stebbins y *Phaseolus metcalfei* Woot y Standl., mientras que en las zonas bajas se utilizan las cortezas de *Hintonia latiflora* (Sessé y Moc. ex DC.) BULLOCK, *Randia echinocarpa* Moc. y Sessé, *R. laevigata* Standl. y *R. watsoni* Robinson.

Con respecto al uso de fortificadores, en especial de los alucinógenos, cabe mencionar que su uso, de acuerdo a las observaciones de Bye (1979), es cada vez más reducido.

Una vez fermentado, el tesgüino es consumido sin filtrar y sin pasteurizar, por lo que contiene los microorganismos vivos involucrados en la fermentación, las sustancias metabolizadas por

ellos y los residuos de los materiales vegetales utilizados.

Los estudios microbiológicos sobre esta bebida son bastante recientes. Las primeras investigaciones fueron realizadas por Herrera y Ulloa en 1973, quienes aislaron la levadura *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex Hansen de dos muestras de tesgüino de maíz de Chihuahua, una fermentada con el pasto *B. arizonicus* como catalizador y otra fermentada sin él. Más tarde, Ulloa *et al.* (1974) encontraron la bacteria *Bacillus megaterium* de Bary en tesgüino de Chihuahua elaborado con jugo de maguey, y en 1977 Ulloa y Herrera aislaron la levadura *Pichia membranaefaciens* Hansen, y su estado asexual, *Candida valida* (Leberle) van Uden y Buckley, de otra muestra de tesgüino de maíz de Chihuahua.

De 1979-1982 Litzinger (1983) estudió dos procesos completos de elaboración y fermentación del tesgüino tarahumara, y once muestras de tesgüino ya fermentado, con el fin de describir en detalle la cinética de la fermentación, investigar cuáles eran las fuentes de inóculo de la bebida, cómo se mantenían los microorganismos responsables de la fermentación, y determinar el papel de los catalizadores en la elaboración de la bebida.

La mayoría de los objetivos planteados en esa investigación se resolvieron de manera parcial, debido primordialmente a problemas de relaciones interpersonales con los tarahumaras y al celo que tiene este grupo étnico por mantener en secreto todas sus tradiciones. Esto dificultó el estudio detallado del proceso de elaboración de la bebida, la obtención de muestras secuenciales de cada una de las fases representativas del proceso, y la evaluación de todos los parámetros físicos y químicos. Sin embargo, pudo establecerse que,

a grandes rasgos, el proceso de elaboración era semejante al descrito por Lumholtz (1902), Bennett y Zingg (1935), Pennington (1963) y Bye (1979), que la fermentación era alcohólica, y que ésta era realizada principalmente por *S. cerevisiae* (lo que corrobora la hipótesis postulada por Herrera y Ulloa, 1976-1982, de que esta levadura es la principal responsable de la fermentación del tesgüino). Dicha levadura fue encontrada en el sedimento de la olla y en las espigas de *B. arizonicus*, por lo que ambos fueron considerados fuentes de inóculo. La bebida fue consumida cuando las poblaciones de *S. cerevisiae* alcanzaron la fase de mantenimiento y el contenido de alcohol fluctuó entre 2.6-3.2 %.

No obstante las aportaciones que hizo la investigación de Litzinger al conocimiento científico del tesgüino tarahumara, aún quedaron muchas incógnitas por resolver para poder establecer cuál es la secuencia de las poblaciones microbianas durante el proceso de fermentación, cuáles son los microorganismos responsables de este proceso, cuál es el papel del catalizador, y cómo se modifican las concentraciones de diversos compuestos químicos (ácido láctico, ácido acético, alcohol, proteínas, grasa, vitaminas del complejo B y cenizas) a lo largo del proceso de fermentación, con objeto de establecer el patrón de fermentación que se lleva a cabo en la bebida, determinar su valor nutritivo y evaluar su importancia como complemento de la dieta de los tarahumaras.

Para resolver todas estas interrogantes se planteó la presente investigación, que tuvo como finalidad realizar el estudio étnico, microbiano y químico del tesgüino tarahumara. Esto implicó, primeramente, el establecimiento de una relación cordial con una

comunidad tarahumara, lo que facilitaría el desarrollo del estudio, cuyos principales objetivos fueron:

1. Establecer en detalle las fases de elaboración y fermentación del tesgüino tarahumara.
2. Estudiar la sucesión de la microbiota durante las diversas etapas de preparación de la bebida, lo que implicó el aislamiento, cuantificación e identificación de los microorganismos presentes en cada una de las etapas de elaboración y fermentación.
3. Determinar el papel del catalizador y del sedimento de la olla.
4. Determinar, por medio de cromatografía de gases y de análisis bromatológicos, los principales cambios bioquímicos que ocurren en el sustrato durante el proceso de fermentación.
5. Correlacionar la sucesión de la microbiota con los cambios bioquímicos, con el fin de determinar cuáles son los microorganismos esenciales en el proceso de fermentación, que determinan las características distintivas de la bebida.

CUADRO 1. PRINCIPALES CERVEZAS TRADICIONALES CONSUMIDAS EN DIFERENTES REGIONES DEL MUNDO

Nombre de la cerveza	País o región donde se consume	Sustrato principal	Estudios realizados	Referencia
ÁFRICA				
<i>Ahai</i>	Ghana	Maíz malteado	Étnicos	Whitby, 1968
<i>Burukutu</i>	Nigeria	Malta de sorgo y harina de yuca	Étnicos Microbianos Bacterias lácticas <i>Lactobacillus</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Streptococcus</i> Bacterias acéticas <i>Acetobacter</i> Levaduras <i>Candida</i> spp. <i>C. guilliermondii</i> <i>Hansenula anomala</i> <i>Kloeckera apiculata</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>S. pastorianus</i> Químicos Fermentación láctica-alcohólica, alcohólica-acética	Faparusi, 1970 Faparusi <i>et al.</i> , 1973
<i>Busaa</i>	Kenya	Malta de mijo y maíz tostado y molido	Étnicos Microbianos Bacterias lácticas <i>Lactobacillus brevis</i> <i>L. salivarius</i> var. <i>salicinius</i>	Nout, 1980a, 1980b

			<p><i>L. plantarum</i> <i>L. viridescens</i> <i>L. casei</i> var. <i>ramosus</i> <i>L. buchneri</i> <i>Pediococcus dammosus</i> <i>P. parvulus</i> Mohos <i>Mucor</i> sp. <i>Rhizopus</i> sp. Levaduras <i>Candida krusei</i> <i>S. cerevisiae</i></p>	
			Químicos	
			Fermentación láctica-alcohólica	
<i>Bouza</i>	Egipto	Trigo molido y trigo (omaíz) malteado	Étnicos Químicos Fermentación láctica-alcohólica Bromatológicos	Morcos, et al., 1973
Cerveza opaca de maíz	Zambia	Maíz malteado o mezcla de maltas de sorgo, maíz y mijo	Étnicos Químicos Fermentación alcohólica	Lovelace, 1977
Cerveza <i>kaffir</i> , cerveza bantú, <i>mqombothi</i> o <i>utywala</i>	Sudáfrica Rhodesia	Malta de sorgo, maíz o mijo y harina de sorgo o maíz	Étnicos Microbianos Bacterias lácticas <i>Lactobacillus delbrückii</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. brevis</i>	Platt y Webb, 1946 van der Walt, 1956 Schwarz, 1956

CUADRO 1 (continuación)

14

L. fermenti
Leuconostoc mesenteroides
L. dextransicum
Pediococcus dammosus
Streptococcus spp.

Aucamp et al.,
 1961
 Novellie, 1966,
 1968, 1986

Levaduras

Brettanomyces intermedius
C. guilliermondii
C. krusei
C. tropicalis
H. anomala
K. apiculata
S. cerevisiae

Químicos

Fermentación láctica-
 alcohólica, eventual-
 mente alcohólica-acé-
 tica
 Bromatológicos

Ikigage

Rwanda

Malta de sorgo
 o mijo

Étnicos

Harkishor, 1977

Químicos

Fermentación alcohóli-
 ca

Merissa

Sudán

Malta y harina
 de sorgo

Étnicos

Dirar, 1978

Microbianos

Bacterias lácticas
Lactobacillus
Leuconostoc
Pediococcus
Streptococcus

Bacterias acéticas
Acetobacter

Munkoyo	Zambia	Atole de maíz, sorgo o mijo y raíces de <i>Rhynchosia venulosa</i> (munkoyo)	<p>Levaduras <i>Saccharomyces</i> spp.</p> <p>Químicos Fermentación láctica, ligeramente acética, seguida de fermentación alcohólica Bromatológicos</p>	Bernier y Lam brechts, 1959 Miracle, 1965 Lovelace, 1977 Mbugua, 1977
Oyokpo	Nigeria	Malta de mijo	<p>Étnicos Microbianos Bacterias lácticas Mohos <i>Geotrichum candidum</i></p> <p>Levaduras <i>C. krusei</i> <i>H. anomala</i> <i>Trichosporon cutaneum</i></p> <p>Químicos Fermentación láctica-alcohólica Bromatológicos</p>	Nkanga, 1981

Pito	Nigeria	Malta de maíz o sorgo, o una combinación de ambas	<p>Mohos <i>Aspergillus flavus</i> <i>A. niger</i> <i>A. oryzae</i> <i>Cladosporium</i> sp. <i>Mucor</i> sp. <i>Penicillium glaucum</i> <i>Rhizopus</i> sp.</p> <p>Levaduras <i>C. krusei</i> <i>C. pseudotropicalis</i> <i>C. mycoderma</i> (actualmente es sinónimo de <i>C. valida</i>) <i>Pichia membranaefaciens</i> <i>Saccharomyces</i> sp. <i>S. cerevisiae</i></p>	Christian, 1966 Ekundayo, 1969, 1977
			<p>Étnicos</p> <p>Microbianos</p> <p>Bacterias lácticas <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Leuconostoc</i> spp.</p> <p>Mohos <i>A. flavus</i> <i>Botryodiplodia theobromae</i> <i>G. candidum</i> <i>Giberella fujikuroi</i> <i>Penicillium citrinum</i> <i>P. funiculosum</i> <i>Rhizopus oryzae</i></p> <p>Levaduras <i>Candida</i> spp. <i>Saccharomyces</i> spp.</p>	
			<p>Químicos</p> <p>Fermentación láctica-alcohólica</p>	

CUADRO 1. (continuación)

	Talla	Etiopía	Malta de trigo o cebada más pan y atole de mijo, sorgo, cebada o maíz (o mezcla de estos cereales)	Étnicos Químicos Bromatológicos	Vogel y Gobe- zie, 1977
	AMÉRICA				
	Acupe	Venezuela	Maíz malteado	Étnicos	Santamaría, 1942
17	Asua	Región monta- ñosa de Ecua- dor	Maíz triturado	Étnicos	La Barre, 1938
	Cachiri o Caxiri	Región del río Içana, Brasil	Maíz o yuca mas- ticados, o fru- tos de <i>Bactris spe- ciosa</i>	Étnicos	Cruz Ulloa y Ulloa, 1973 Potter, 1978
	Chicha	Argentina, Bo- livia, Brasil, Colombia, Ecua- dor, Perú	Maíz germinado o maíz molido ensa- livado; camote o yuca masticados, granos de quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i>) germinados o plá- tano maduro	Étnicos Microbianos Bacterias lácticas <i>Lactobacillus</i> <i>Leuconostoc</i> Bacterias acéticas <i>Acetobacter</i> Mohos <i>Aspergillus</i> spp. <i>Oidium lactis</i> (actual- mente sinónimo de <i>G.</i> <i>candidum</i>) <i>Penicillium</i> spp.	Cutler y Cárde- nas, 1947 Gómez, 1949 Nicholson, 1960 Cruz Ulloa y Ulloa, 1973 Escobar, 1977 Escobar <i>et al.</i> , 1977 Antúnez de Ma- yolo, 1984

Levaduras

C. tropicalis
Mycoderma vini (actualmente sinónimo de *Candida vini*)
Saccharomyces apiculata
S. cerevisiae
S. pastorianus

Químicos

Fermentación láctica-alcohólica, seguida de una alcohólica-acética
 Bromatológicos

<i>Chicha</i>	México	Cebada más azúcar	Étnicos	Santamaría, 1978
<i>Masato</i> o cerveza de yuca	Región amazónica	Yuca masticada y yuca cocida	Étnicos Microbianos Levaduras Químicos Fermentación alcohólica	Woolfe y Woolfe, 1984 Aldoo, 1986
<i>Sendechó</i> o <i>sende</i>	Región central de México	Maíz germinado y chile pasilla	Étnicos Químicos Fermentación láctica-alcohólica, seguida de una alcohólica-acética	Mendoza, 1870 Cruz Ulloa y Ulloa, 1973

ASIA

<i>Badek</i>	Asia	Arroz	Étnicos	Batray Millner, 1976
--------------	------	-------	---------	----------------------

CUADRO 1 (continuación)

			Microbianos Mohos <i>Mucor</i> sp. <i>Rhizopus</i> sp. Levaduras	Potter, 1978
<i>Binburam</i>	Filipinas	Arroz	Étnicos Microbianos Bacterias Levaduras	Potter, 1978
<i>Chiang o lugri</i>	Noroeste de la India, Nepal y mesetas del Ti- bet	Cebada maltea da o cebada co cida	Étnicos Microbianos Levaduras <i>S. cerevisiae</i> <i>S. uvarum</i>	Wilkes, 1968 Batra y Millner, 1976 Batra, 1986
<i>Darassun</i>	Mongolia	Mijo	Étnicos	Batra y Millner, 1976
<i>Kwase</i>	URSS	Trigo y cente no malteados, y harina de arroz	Étnicos	Batra y Millner, 1976 Potter, 1978
<i>Pachwai , murcha o bakhar</i>	Asia	Arroz	Étnicos Microbianos Mohos <i>Amylomyces rouxii</i> <i>A. oryzae</i> <i>Mucor fragilis</i> <i>M. javanicus</i>	Batra y Millner, 1974, 1976 Batra, 1986

CUADRO 1 (continuación)

			<i>M. prainii</i> <i>M. rouxianus</i> <i>Rhizopus arrhizus</i> Levaduras <i>H. anomala</i> var. <i>schneggi</i> <i>Endomycopsis burtonii</i> (actualmente sinónimo de <i>Pichia burtonii</i>) <i>Endomycopsis fibuliger</i> (actualmente sinónimo de <i>Saccharomycopsis fibuligera</i>)		
	Rakshi	Nepal	Arroz	Étnicos	Potter, 1976
20	Torani	India	Arroz	Étnicos Microbianos Bacterias lácticas Mohos <i>Aspergillus</i> <i>Geotrichum</i> <i>Penicillium</i> Levaduras <i>Candida</i> <i>Hansenula</i>	Potter, 1976
EUROPA					
	Bosa	Yugoslavia	Maíz	Étnicos	Batra y Millner, 1976
	Boza o busa	Turquía, Hungría, región balcánica, algunos países árabes	Mijo, aunque puede utilizarse maíz, cebada, centeno, trigo, avena o arroz	Étnicos Microbianos Bacterias lácticas <i>Lactobacillus</i> spp. <i>Micrococcus</i> spp. <i>Streptococcus</i> sp.	Pamir, 1961 Potter, 1976

Levaduras

C. mycoderma (actualmente sin6nimo de *C. valida*)

Torulopsis candida (actualmente sin6nimo de *Candida famata*)

S. cerevisiae

Químicos

Fermentaci6n láctica-alcoh6lica, eventualmente en la fase final hay una fermentaci6n acética

Kalja

Finlandia

Centeno malteado

Étnicos

Potter, 1976

CUADRO 2. PLANTAS ADICIONADAS AL TEGÜJINO TARAHUMARA DURANTE SU PROCESO DE ELABORACIÓN Y FERMENTACIÓN

Nombre científico de la planta, y parte utilizada	Nombre en tarahumara	Hábitat o localidad	Compuestos químicos	Probable efecto
Líquenes				
Usneaceae				
<i>Usnea</i> sp. (talos) (1) ^a	<i>deté powará</i> (1)	Bosque de pino-encino, de las zonas altas de la sierra (1)	Fenilaminas (ácido úsnico) (4)	Catalizador y edulcorante (1) Antimicrobiano (4)
<i>U. subfusca</i> (talos) (6,7)	----- ^b	idem (6)	idem (4)	Catalizador (6,7)
<i>U. variolosa</i> (talos) (6)	-----	idem (6)	idem (4)	idem (6)
Pteridofitas				
Polypodiaceae				
<i>Polypodium erythro-lepis</i> (toda la fronda) (2)	<i>muchavetana</i> (2)	idem (2)	Fenoles y glucósidos (4)	Catalizador, fortificador y medicinal (2)
<i>P. thysanolepis</i> (toda la fronda) (2)	<i>chuwirate</i> (2)	idem (2)	idem (4)	idem (2)
Selaginellaceae				
<i>Selaginella</i> spp. (toda la planta) (2)	<i>chikuri darara</i> (2)	Bosque de encino, de las barrancas (2)	Fenoles (4)	Catalizador, fortificador, edul-

<i>S. cuspidata</i> (toda la planta) (1,6,7)	<i>magóra</i> (1)	Bosque de pino-encino, de las zonas altas de la sierra (1,2,6,7)	idem(4)	colorante, y aditivo que se añade al tes- güino ácido (2) Catalizador (6,7) Edulcorante (1)
--	-------------------	--	---------	---

Espermatofitas

Angiospermas-monoco-
tiledóneas

Cyperaceae

Fimbristylis sp.
(toda la planta)
(1,6,7)

kasaláka (1)

idem (1,5)

idem(4)

Catalizador y medi-
cinal (1,6,7)
Antimicrobiano (4)

Gramineae

Bromus arizonicus
(espigas) (1,6,7)

basidówi (1)
basíawi (6)
vasidáwari (5)

Bosques de encino, de las
barrancas adyacentes a
las zonas altas de la sie-
rra (6)

Fenilaminas
y enzimas a-
mino oxidati-
vas (4)

Catalizador (1,6,7)
Conversión enzimáti-
ca del sustrato (4)

B. anomalus
(espigas) (2)

basidówi (2)

Márgenes de las tierras
cultivadas y de los cami-
nos de la sierra (2)

idem (4)

idem (2,4)

B. carinatus
(espigas) (2)

basidówi (2)

idem (2)

idem (4)

idem (2,4)

B. porteri
(espigas) (1,2)

basidówi (1)
basidáwari (2)
basíari (2)
wasiaháwari (2)

idem (2)

idem (4)

idem (2,4)

Cenchrus sp.
(flores) (2)

Fenilaminas
y enzimas o-
xidativas (4)

idem (2,4)

Angiospermas-dicotiledóneas

Cactaceae

<i>Ariocarpus fissuratus</i> (savia) (5,6)	<i>jíkuli sunami</i> (5)	Sur de la región de Ojinaga, Desierto de Chihuahua (2,3,5)	Anhalonina, hordenina y mezcalina (2,8)	Fortificador (3,6) Medicinal (2,3)
<i>Lophophora williamsii</i> (savia) (2,5,6)	<i>jíkuli wama-mé</i> (5)	idem (2,3,5)	Alcaloides (feniletilaminas e isoquinolinas) (4)	Fortificador (6) Antimicrobiano y medicinal (4)
<i>Pachycereus pecten-aboriginum</i> (savia) (2,3,6)	<i>cháwe</i> (6) <i>wichowaka</i> (2,3) <i>bitaya mawalí</i> (2,3)	Laderas de las barrancas occidentales	Alcaloides (carnegina y fenetilamina metoxilada) (3)	Fortificador (2,3,6)

Compositae

<i>Hieracium fendleri</i> (raíces) (6,7)	<i>rawiči šitakame</i> o <i>chíkuri nakara</i> (6)	Bosque de pino-encino, de las zonas altas de la sierra	-----	Catalizador y medicinal (6,7)
<i>Stevia</i> spp. (raíces) (1)	<i>dolinawa</i> (1)	idem (1)	Fenoles (hidroquinonas), glucósidos y alcaloides con anillo pirrólico (4)	Fortificador (1) Edulcorante (1,4) Medicinal y antimicrobiano (4)
<i>Stevia serrata</i> (hojas) (6)	<i>rončnowa</i> (6)	idem (6)	idem (4)	Catalizador (6)

CUADRO 2 (continuación)

Ericaceae

Chimaphila dasystephana
(hojas) (6,7)

rojishuwi (6)

idem (6)

Alcaloides,
fenoles y ácido acetil-salicílico

Catalizador (6,7)

Ch. maculata
(hojas) (1,2,6,7)

dolinawa (1)
rojishuwi (6)
rojásoa (2)

idem (6)

Quimafilina (2)
Acido acetil-salicílico

Catalizador (2,5,7)
Fortificador (1)
Medicinal (1,6)
Antimicrobiano (2)

Leguminosae

Phaseolus sp.
(raíces) (2)

gotoko (2)

idem (2)

Isoflavonoides, esteroides, enzimas amino oxidativas y alcaloides con grupo indol(4)

Catalizador (2)
Conversión enzimática del sustrato (4)
Medicinal (1)

Ph. metcalfei
(raíces) (6,7)

gotoko, otoko, goto (6)

idem (6)

idem (4)

Catalizador (6,7)
Medicinal (1,6,7)

Plumbaginaceae

Plumbago scandens
(raíces) (2,6,7)

rachinie (2)
gotoko, otoko, goto (6)

Ladera de barrancas occidentales (6)

Fenoles (naf-to-quinonas) (4)

Catalizador y medicinal (2,6,7)
Antimicrobiano (4)

Rubiaceae

Coutarea pterosperma (actualmente es sinónimo de *Hintonia latiflora*)
(corteza) (1,2,6)

iwituli (1)
iwirigi (2)
kayá (6)
atoari (6)

Barrancas y laderas occidentales de las montañas de Chihuahua; Cañon de Urique (2,6,7)

Quinina (4)

Catalizador (2,6,7)
Edulcorante (1)
Medicinal (1,2,6,7)
Antimicrobiano (2)

<i>Randia echinocarpa</i> (corteza y semillas) (1,2,6,7)	<i>apatco</i> (1) <i>kakwára</i> (6) <i>batari</i> (6) <i>apachi</i> (2) <i>kajákarí</i> (2)	Bosques bajos de las barrancas de Chihuahua, Cañón de Urique	Alcaloides quinolínicos (4)	Catalizador (1,2,6,7) Aditivo para tesgüino ácido (2)
<i>R. laevigata</i> (corteza y semillas) (1,2,6,7)	<i>akagékoli</i> (1) <i>kakwára</i> (6) <i>batari</i> (6) <i>sapochi</i> (2)	Cañón de Urique (2, 6)	idem (4)	Catalizador (1,2,6,7)
<i>R. watsonii</i> (corteza) (2,6,7)	<i>kakwára</i> (6) <i>batari</i> (6) <i>kajákarí</i> (2)	idem (2,6)	idem (4)	Catalizador (2,6,7)

26

Solanaceae

<i>Datura meteloides</i> (semillas, raíces y hojas) (6)	<i>tikúwari</i> (6)	Bosque de pino-encino, de las zonas altas de la sierra, y cañones occidentales	Alcaloides atropínicos y enzimas amino-oxidativas (4, 8)	Catalizador (6,7) Fortificador (6) Conversión enzimática del sustrato (4)
--	---------------------	--	--	---

^a (1) Bennett y Zingg, 1935; (2) Bye, 1976; (3) Bye, 1979; (4) Litzinger, 1983; (5) Lumholtz, 1902; (6) Pennington, 1963; (7) Pennington, 1969; (8) Schultes, 1982.

^b Datos no proporcionados en los trabajos citados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Elaboración del tesgüino.

El tesgüino estudiado en la presente investigación fue elaborado a finales de octubre y principios de noviembre de 1981 en Gologochi, localidad situada en la Sierra Tarahumara a unos 10 Km al sureste de Creel (Mapa 1, Cuadro 3, Figs. 1 y 2). La bebida fue preparada de acuerdo a la manera tradicional acostumbrada por los indígenas de la Alta Tarahumara, siguiendo un proceso general semejante al ya descrito por varios autores (Lumholtz, 1902; Bennett y Zingg, 1935; Pennington, 1963; Bye, 1976; Kennedy, 1978; Litzinger, 1983); dicho proceso se explica e ilustra a continuación, y se resume en el diagrama de flujo 1.

Dieciseis y medio Kg de granos de maíz (*Zea mays* L.) del tipo amarillo (raza cristalino de Chihuahua) se bolearon a la intemperie para limpiarlos. Posteriormente se remojaron, bajo techo, durante 38 horas en suficiente agua tibia, con la finalidad de promover la imbibición de los granos e iniciar el proceso de germinación y de eliminar los granos dañados que flotaban en la superficie del agua. Los granos ya hinchados se escurrieron a través de una cesta (para eliminar el exceso de agua) y se vaciaron a un costal de plástico de malla abierta que permitiera una buena aireación y evitara el calentamiento de los granos; al saco se le puso una piedra encima (con el fin de mantenerlo cerrado y con los granos más o menos compactados), y se colocó dentro de una habitación oscura cercano a un fogón para favorecer una rápida germinación y la obtención de brotes amarillentos, carentes de clorofila, que confieren un sabor dulce a la cerveza (Figs. 6-11).

Después de cinco días bajo tales condiciones, los granos malteados, que presentaban brotes de 3 a 4 cm de longitud, se dividieron en dos lotes iguales. Uno se mantuvo bajo las condiciones mencionadas 24 horas más, mientras que el otro fue martajado burdamente en el metate (Figs. 12-14).

La pasta de maíz obtenida se suspendió en suficiente agua hirviendo (70 litros), y se coció a la intemperie durante 12 horas (teniendo cuidado de reponer parte del agua evaporada) hasta obtener un atole amarillento. Este se dejó enfriar y se coló a través de una cesta de yuca denominada *wari*. El líquido recuperado se vació en ollas tesgüineras (llamadas por los tarahumaras *sikoli donéla*, ollas hervidoras), que presentaban residuos de fermentaciones previas adheridos a sus paredes; a cada una de estas ollas se adicionaron 1½ litros de la suspensión de la liga (*Bromus arizonicus*) molida en metate, y los restos molidos del maíz que habían quedado en el cedazo. El contenido de las ollas se mezcló perfectamente para revolver el catalizador y asegurar una fermentación uniforme (Figs. 15-23).

Durante el proceso de fermentación se trataron de evitar las fluctuaciones bruscas de temperatura, por lo que las ollas tesgüineras, cubiertas con un lienzo blanco y limpio, se colocaron dentro de una habitación cálida, en la que se mantuvo una temperatura más o menos uniforme. Una vez iniciada la fermentación se procedió a moler y cocer el segundo lote de malta siguiendo el procedimiento descrito. Del atole obtenido se añadieron tres litros a 30 litros de tesgüino de 24 horas de fermentación, se mezcló bien y se dejó fermentar otras 26 horas, al cabo de las cuales la cer-

veza estuvo lista para ser consumida (Figs. 24-26).

Es importante señalar que durante el proceso de fermentación las personas que elaboraron el tesgüino sólo distinguieron cuatro fases, que quedaron delimitadas por el grado de producción de CO_2 en la superficie del líquido y por la adición de diversos sustratos. Dichas fases correspondieron a la fermentación inicial del atole, que se manifestó por un burbujeo lento (escasa producción de CO_2); a la adición de la liga o catalizador que aceleró e incrementó el proceso por lo que la producción de gas fue mayor; a la adición de atole nuevo, que es considerada una segunda fermentación y que se manifestó, inicialmente, por una leve producción de CO_2 , seguida de una producción elevada, y después de esto, la fase final de fermentación, que quedó delimitada por el cese en la producción activa del gas. Litzinger (1983) registró un proceso similar al descrito arriba.

Sin embargo, para lograr los objetivos de la presente investigación, fue necesario establecer fases adicionales, que fueron determinadas por la persona encargada de cuidar las ollas, pues el acceso a ellas está restringido durante la fermentación. En cada una de esas fases se hicieron muestreos y se registraron los parámetros fisicoquímicos más importantes tanto del sustrato (temperatura, contenido de humedad, pH) como del ambiente (temperatura, humedad relativa).

En resumen, durante el proceso de elaboración y fermentación del tesgüino, las muestras consideradas son las que se enlistan en el cuadro 4, y con ellas se realizaron los estudios microbianos y químicos siguiendo la metodología que se describe a con

tinuación.

Medición de parámetros fisicoquímicos.

Durante todo el proceso de elaboración y fermentación del tesgüino se registraron la temperatura y la humedad relativa del ambiente cercano a la olla de remojo, al costal de germinación y a las ollas tesgüíneas. El registro se realizó mediante un higrotermógrafo (Bacharach Instrument Co.) y un higrómetro (Lambrecht) que se colocaron contiguos a los recipientes de elaboración y fermentación de la cerveza (Fig. 9). Además se determinaron la temperatura, el contenido de humedad y el pH del sustrato durante su elaboración y fermentación. La temperatura se registró con un termómetro de interior-exterior (407 Airguide), cuyo bulbo (exterior) fue desinfectado e introducido en el sustrato minutos antes de tomar las muestras y después de haberlo homogeneizado perfectamente (Figs. 18 y 25).

El contenido de humedad de los granos de maíz secos, remojados y germinados, y de los granos de la liga, se determinó por el método de secado en estufa a 103°C durante tres días, y se cuantificó por la diferencia de peso entre la muestra original y la ya seca; los valores se expresaron en porcentaje con base al peso húmedo (ISTA, 1976). El contenido de humedad del resto de las muestras se estableció por el método de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1980) y también se expresó en porcentaje.

El pH de todas las muestras se midió, por triplicado, con tiras de papel indicador (Acilit pH 0-6, Merck, con sensibilidad de 0.5 unidades de pH), las cuales fueron sumergidas en las muestras líquidas recién obtenidas y homogeneizadas. En el caso de los gra

nos de maíz (secos, remojados o germinados) y de la liga, antes de determinar el pH fue necesario pesar 10g de las muestras (por triplicado), molerlos en un mortero y suspenderlos en 50 ml de agua destilada. La medición del pH se realizó sumergiendo las tiras de papel indicador en las suspensiones obtenidas.

Obtención de muestras.

La obtención de las muestras seriadas se realizó bajo condiciones semiasépticas, pero utilizando material esterilizado.

Las muestras de maíz (seco, remojado o germinado), de aproximadamente 250g, se tomaron directamente del lote original con ayuda de una cuchara flameada, y se vaciaron a bolsas de polietileno. De los 250g se separaron 420 granos, para realizar los estudios de microbiota, y el resto, que se emplearía en los estudios químicos, se dejó en la bolsa de polietileno, cerrada perfectamente para evitar su contaminación.

Es importante señalar que antes de empacar los granos remojados y germinados, estos se secaron en toallas de papel estériles, para evitar que el proceso de germinación continuara y que además se desarrollaran mohos y bacterias causantes de biodeterioro.

De la liga se obtuvo una muestra de 100g, de la cual se separaron los granos necesarios para determinar la microbiota, y el resto se guardó en una bolsa de polietileno.

El sedimento adherido a las paredes de la olla tesgüinera se raspó con una hoja de bisturí estéril, hasta obtener una muestra de aproximadamente 10g que se colectó en una caja de Petri estéril.

El resto de las muestras (Cuadro 4), que correspondieron a

los sustratos líquidos, se obtuvieron, con un cucharón flameado, directamente de los recipientes de elaboración y fermentación, minutos después de haber homogeneizado el sustrato. Las muestras obtenidas se vaciaron en vasos de precipitados estériles. El volumen total de cada una de ellas se dividió en cuatro porciones, tres de las cuales se diluyeron (volumen a volumen) en 50 ml de agua destilada estéril contenida en botellas de polietileno rígido, de 200 ml de capacidad (previamente esterilizadas), y se fijaron, para detener la fermentación, por indicaciones del Dr. G. Viniegra, del Departamento de Biotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa, con 20 a 30 gotas de una solución saturada de cloruro de mercurio. Con estas muestras, por triplicado, se hicieron los estudios bromatológicos y químicos. La porción restante del volumen original de cada una de las muestras se utilizó para determinar la microbiota y el pH.

Determinación de la microbiota.

La microbiota presente en los granos de maíz secos, remojados o germinados, y en los granos de la liga, se determinó sembrando 200 granos, desinfectados o no superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 2.0%, en 10 placas de agar (20 granos por placa), cinco de Jv₈A y cinco de MSA (Cuadro 4), las que fueron empacadas en bolsas de polietileno e incubadas a la temperatura ambiente (promedio de 23°C) durante varios días. Las cajas se revisaron diariamente para cuantificar el porcentaje de granos invadidos por cada hongo o bacteria y aislar las colonias que se consideraran diferentes.

Los cultivos axénicos así obtenidos se transfirieron por du-

plicado a tubos con medio inclinado (JV₈A y MSA) para su estudio en el laboratorio.

El aislamiento de la microbiota de los productos molidos (malta y liga), del sedimento de la olla, de los atoles y del tesgüino de diferentes horas de fermentación se hizo por la técnica de dilución; 5g de sustrato molido o 5 ml de sustrato líquido se suspendieron en 500 ml de agua destilada estéril, y a partir de esta dilución (1:100) se hicieron diluciones en serie: 1:10⁶, para las muestras de las primeras etapas de elaboración de la cerveza, 1:10⁸, para el sedimento de la olla y tesgüino de pocas horas de fermentación, y 1:10¹⁰, para el tesgüino de 36 y 50 horas de fermentación (Cuadro 4, Figs. 27-36).

En cada caso, de las últimas tres diluciones seriadas obtenidas se inoculó 1 ml por placa de JV₈A (5 placas por dilución), que fue extendido en toda la superficie de medio con una varilla de vidrio. Las placas así inoculadas se empacaron en bolsas de plástico y, después de un período de incubación de 6 a 10 días a temperatura ambiente, se cuantificaron y aislaron las colonias de bacterias, mohos y levaduras. El número de propágulos viables por gramo o por mililitro se obtuvo multiplicando el total de colonias de cada especie por el factor de dilución (Moreno y Christensen, 1972; Bernier, 1973). Las técnicas empleadas son las mismas que utilizó Ulloa (1974) para el estudio de la sucesión de la microbiota en el pozol de Tabasco, México.

Todos los cultivos axénicos obtenidos durante el estudio de campo se mantuvieron en tubos con medio inclinado (JV₈A, MSA, GELPA) para su estudio en el laboratorio.

Todos los aislamientos de mohos y levaduras se trabajaron en el Laboratorio de Micología y Fitopatología del Instituto de Biología de la UNAM, y fueron identificados hasta especie utilizando, en el caso de los mohos los medios de cultivo, las condiciones de incubación, los métodos de inoculación y las claves taxonómicas recomendados en las referencias micológicas que se indican en el cuadro 5, o bien siguiendo, en el caso de las levaduras, los criterios fundamentales, las metodologías y las claves taxonómicas de los tratados de Lodder (1970), Barnett *et al.* (1979) y Kreger van Rij (1984), y que se resumen en el cuadro 6. Con esto se logró la identificación hasta especie.

Los aislamientos de bacterias se estudiaron en el Departamento de Biotecnología de la UAM-Iztapalapa, y fueron identificados únicamente hasta género siguiendo el Manual de Bergey (Buchanan y Gibbons, 1974).

Estudios químicos.

Los estudios químicos realizados a las muestras de las diferentes etapas de elaboración y fermentación del tesgüino incluyeron el análisis bromatológico, la determinación de vitaminas del complejo B (niacina, riboflavina y tiamina) y la cuantificación de ácido láctico, ácido acético, metanol y etanol. Dichos análisis se hicieron en los Laboratorios Nacionales de Fomento Industrial siguiendo la metodología que se indica a continuación.

Análisis bromatológico.

Proteína.

Se determinó por microkjeldahl según la metodología descrita por Pearson (1970).

Cenizas, grasa cruda y contenido de humedad.

Se cuantificaron de acuerdo a la metodología recomendada por la AOAC (1980).

Determinación de vitaminas.

Niacina.

Se cuantificó por el método microbiológico descrito en el manual Vitamin Assay Test Methods de Strohecker (1965).

Riboflavina.

Se determinó por el método fluorométrico de la AOAC (1980).

Determinación de ácido láctico, ácido acético, metanol y etanol.

La determinación de estos compuestos se realizó por cromatografía de gases, empleando columnas y condiciones cromatográficas diferentes para cada uno, ya que las muestras presentaban interferencias. El cromatógrafo utilizado fue un Hewlett Packard, Modelo 5840 A (con controlador, integrador y graficador) y con Terminal Hewlett Packard Modelo 5840 AGC.

Ácido láctico.

Para analizar la cantidad de ácido láctico presente en las muestras fue necesario esterificarlo, siguiendo la metodología descrita por Pozo (1983): a 1 ml de muestra se le agregaron 2 ml de metanol absoluto y 0.4 ml de ácido sulfúrico al 50%. Se incubó durante una hora a 55°C, se dejó enfriar, se adicionó 1 ml

de agua destilada y se agitó. El ácido láctico esterificado se extrajo agregando 1 ml de cloroformo y agitando durante medio minuto. La cuantificación se efectuó inyectando 1 μ l de la fase clorofórmica en el cromatógrafo, bajo las condiciones que aparecen en el cuadro 7.

Ácido acético, metanol y etanol.

Su determinación se efectuó inyectando directamente en el cromatógrafo la muestra diluida en agua (1:1) y utilizando, para cada caso, las columnas y condiciones cromatográficas que se señalan en el cuadro 7.

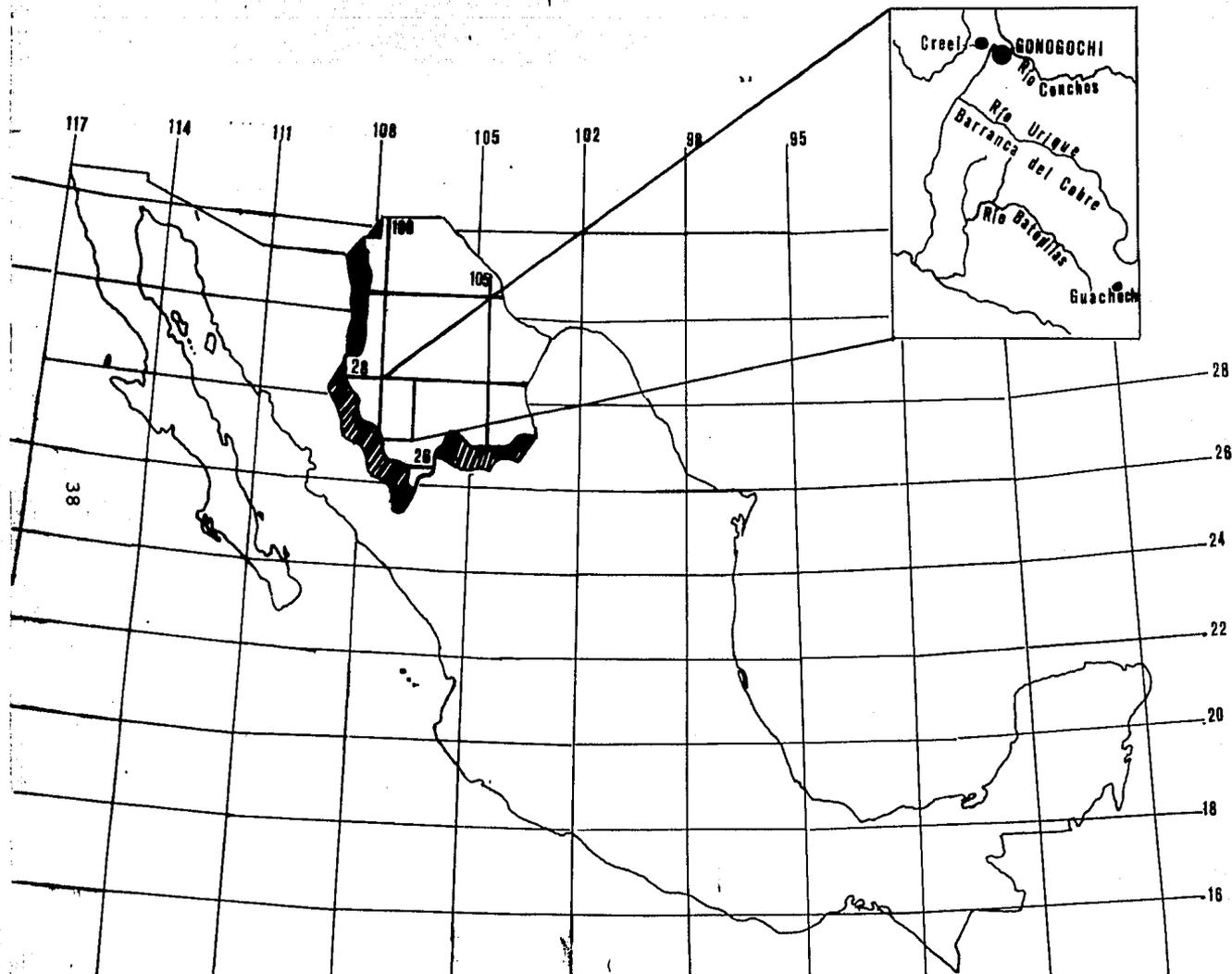
Determinación de la actividad amilolítica de las cepas de mohos aisladas de los granos de maíz y de la liga.

La capacidad amilolítica de las cepas de mohos aisladas de las materias primas (maíz y granos de liga) empleadas en la elaboración del tesgüino se determinó mediante las técnicas de Gordon y Mihm (1959), y de Ellis *et al.* (1974), que emplean medios de cultivo con compuestos amiloides como única fuente de carbono, y que evalúan la capacidad amilolítica de las cepas en forma cualitativa, por el grado de clarificación del medio de cultivo. Además se determinó la reacción del medio al lugol (reacción amiloide positiva o negativa, o reacción dextrinoide, según el caso).

Determinación de la actividad enzimática de la liga.

Con la finalidad de conocer si la función del catalizador (liga) durante la fermentación del tesgüino era la de una fuente de

enzimas, se determinó su actividad amilolítica y proteolítica. La capacidad amilolítica se evaluó con la técnica de Hopkins y Bird (1954, en Iturbe, 1985), que utiliza iodo como reactivo para cuantificar almidón, y con la de Sumner y Howell (1935), que emplea el ácido dinitro-salicílico para determinar azúcares reductores. La actividad proteolítica se determinó por la técnica de Rinderknecht *et al.* (1968, en Iturbe, 1985).



Mapa 1. Localización de Gonogochi, en la región sur occidental del estado de Chihuahua.

Cuadro 3. CARACTERÍSTICAS CLIMÁTICAS DE CREEL, CHIHUAHUA, POBLACIÓN CON ESTACIÓN METEOROLÓGICA MÁS CERCANA A GONOGOCHI, Y LOCALIZADA A 27° 45' DE LATITUD NORTE, A 107° 38' DE LONGITUD OESTE Y A 2 345 m DE ALTITUD^a

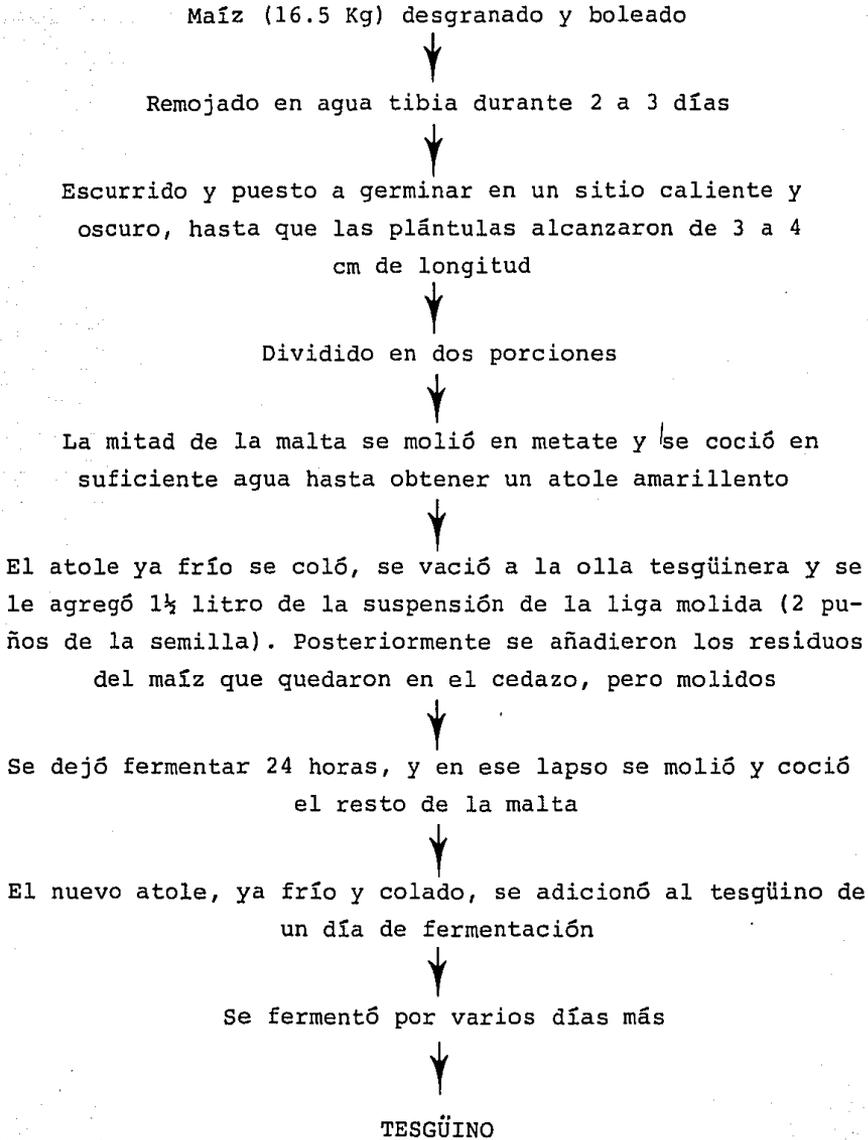
	Ene.	Feb.	Mar.	Abr.	May.	Jun.	Jul.	Ago.	Sep.	Oct.	Nov.	Dic.	Anual
Temperatura media °C	7.0	6.2	7.5	9.2	12.4	16.2	17.4	16.8	15.0	11.9	8.1	6.8	11.2
Precipitación mm	68.3	29.1	19.2	7.2	7.0	56.4	180.9	169.3	57.3	46.5	17.6	36.8	695.1 (total)

^a Datos del Servicio Meteorológico Nacional, de la Secretaría de Recursos Hidráulicos y de la Comisión Federal de Electricidad, recopilados y procesados por el personal del Instituto de Geografía de la UNAM.

Tipo de clima, según García (1973): C(w₂)(x⁻)b(e); el más húmedo de los templados subhúmedos, con temperatura media anual entre 12 y 18°C, la del mes más caliente entre 6.5 y 22°C, y la del mes más frío entre -3 y 18 °C; con lluvias en verano, cociente P/T > 55.0; porcentaje de lluvia invernal con respecto a la anual > 10.2 mm, con una oscilación extremosa entre 7 y 14°C.

DIAGRAMA DE FLUJO 1

Elaboración del tesgüino tarahumara estudiado



CUADRO 4. FASES MUESTREADAS DEL PROCESO DE ELABORACIÓN Y FERMENTACIÓN DEL TEGÜINO, Y TÉCNICAS Y MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS EN EL ESTUDIO DE SU MICROBIOTA

Fases muestreadas durante la elaboración y fermentación del tesgüino	Determinación de la microbiota	Medios de cultivo
Granos de maíz secos	Siembra de granos ^a en placas de agar	JV ₈ A, MSA ^c
Granos de maíz remojados 38 horas	Siembra de granos en placas de agar	JV ₈ A
Malta molida (lote 1) suspendida en agua	Dilución; siembra de 1 ml en placa de agar ^b de las diluciones 1:10 ⁴ , 1:10 ⁵ y 1:10 ⁶	JV ₈ A
Atole cocido y colado 1	idem	JV ₈ A
Granos de liga o <i>basiawi</i>	Siembra de granos en placas de agar	JV ₈ A, MSA
Liga molida suspendida en agua	Dilución; siembra de 1 ml en placa de agar de las diluciones 1:10 ⁴ , 1:10 ⁵ y 1:10 ⁶	JV ₈ A

Cuadro 4 (continuación)

Sedimento de la olla tesgüinera	Espolvoreo sobre placa de agar, o por dilución; siembra de 1 ml en placa de agar de las diluciones 1:10 ² hasta 1:10 ⁸	JV ₈ A, MSA
Mezcla del atole cocido y colado 1, con la suspensión de la liga	Dilución; siembra de 1 ml en placas de agar de las diluciones 1:10 ⁴ , 1:10 ⁵ y 1:10 ⁶	JV ₈ A
Tesgüino de 20 horas de fermentación	idem, con las diluciones 1:10 ⁶ , 1:10 ⁷ y 1:10 ⁸	JV ₈ A
Tesgüino de 24 horas de fermentación	idem	JV ₈ A
Malta molida (lote 2) suspendida en agua	idem, con las diluciones 1:10 ⁴ , 1:10 ⁵ y 1:10 ⁶	JV ₈ A
Atole cocido y colado 2	idem	JV ₈ A
Mezcla del tesgüino de 24 horas de fermentación con el atole cocido y colado 2	idem, con las diluciones 1:10 ⁶ , 1:10 ⁷ y 1:10 ⁸	JV ₈ A

Cuadro 4 (continuación)

Tegüino de 30 horas de fermentación	idem, con las diluciones 1:10 ⁷ , 1:10 ⁸ y 1:10 ⁹	JV ₈ A
Tegüino de 36 horas de fermentación	idem, con las diluciones 1:10 ⁸ , 1:10 ⁹ y 1:10 ¹⁰	JV ₈ A
Tegüino de 50 horas de fermentación	idem	JV ₈ A

43

^a Se sembraron 100 granos de maíz (secos o remojados) o de la liga, repartidos en varias placas de los medios de cultivo señalados.

^b Se sembraron 5 placas de agar por cada dilución hecha.

^c JV₈A jugo de 8 verduras Campbell agar MSA malta sal agar (Ulloa y Hanlin, 1978)

CUADRO 5. TRATADOS MICOLÓGICOS Y MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS PARA IDENTIFICAR LAS ESPECIES DE LOS GÉNEROS DE MOHOS ENCONTRADOS DURANTE EL PROCESO DE ELABORACIÓN Y FERMENTACIÓN DEL TEGÜINO.

Géneros de hongos ^a	Medios de cultivo	Tratados micológicos
(Zygomycotina)^b		
<i>Rhizopus</i>	EMA y EMDPA ^c	Gilman, 1959; Zycha <i>et al.</i> , 1969; O'Donnell, 1979
(Deuteromycotina)		
<i>Alternaria</i>	EMA y PDA	Ellis, 1971; Carmichael <i>et al.</i> , 1980
<i>Aspergillus</i>	CzA y MSA	Raper y Fennell, 1977
<i>Cladosporium</i>	EMA y PDA	Ellis, 1971; Carmichael <i>et al.</i> , 1980
<i>Epicoccum</i>	EMA y PDA	Ellis, 1971; Domsch <i>et al.</i> , 1980
<i>Fusarium</i>	PSA y PDA	Booth, 1971
<i>Penicillium</i>	CzELA, EMDPA y G25N	Pitt, 1979
<i>Phoma</i>	EMA y PDA	Sutton, 1980

^a Sólo se enlistan los géneros. Las especies identificadas de cada uno de ellos se indican en los cuadros de la sección de resultados.

^b Los nombres entre paréntesis indican las subdivisiones a la que pertenecen los géneros de hongos.

^c Las siglas representan los medios de cultivo empleados, y que fueron preparados según las formulaciones indicadas en los correspondientes tratados micológicos, con el objeto de ajustarse a las condiciones de cultivo en que se basan las descripciones de las especies de los hongos.

CZA Czapek agar CzELA Czapek-extracto de levadura-agar EMA extracto de malta-agar EMDPA extracto de malta-dextrosa-peptona-agar G25N glicerol-nitrato-agar
PDA papa-dextrosa-agar PSA papa-sacarosa-agar.

CUADRO 6. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS CONSIDERADAS PARA EL ESTUDIO DE LAS LEVADURAS DEL TEGÜINO

I. Características morfológicas

A. Macromorfología o características culturales

1. Crecimiento en medio líquido
2. Crecimiento en medio sólido

B. Micromorfología

1. Características de las células vegetativas
 - a) Morfología en medio sólido
 - b) Formación de pseudomicelio y micelio verdadero
2. Características de la reproducción asexual o vegetativa
3. Características de la reproducción sexual
 - a) Proceso de formación de ascas y ascosporas
 - b) Características de ascas y ascosporas

II. Características fisiológicas y bioquímicas

1. Utilización de compuestos de carbono
 - a) Fermentación de 11 carbohidratos
 - b) Asimilación de 34 compuestos de carbono
 - c) Desdoblamiento de arbutina
 2. Utilización de compuestos de nitrógeno
 - a) Asimilación de KNO_3
 - b) Asimilación de $NaNO_3$
 - c) Asimilación de L - lisina
 3. Requerimientos de vitaminas para el crecimiento
 - a) Crecimiento en medio libre de vitaminas
 - b) Vitaminas que promueven el crecimiento
 4. Resistencia al antibiótico cicloheximida (Concentraciones de 0.01 y 0.1%)
 5. Crecimiento en medios de alta presión osmótica
 - a) Tolerancia a 50 y 60% de glucosa
 - b) Tolerancia a concentraciones de 1 - 18% de NaCl
 6. Producción extracelular de compuestos amiloides
 7. Crecimiento a 37°C
-

CUADRO 7. TIPO DE COLUMNA Y CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS UTILIZADAS EN LA DETERMINACIÓN DE
 ÁCIDO LÁCTICO, ÁCIDO ACÉTICO, METANOL Y ETANOL

Determinación	Condiciones cromatográficas						
	Tipo de columna	Temperatura de la columna	Temperatura Iny.	Temperatura Det.	Detector	Volumen de inyección	Flujo de N ₂
Acido láctico	DEGS ^a 6% sobre chromosorb WHP 6 ft acero	100°C	150°C	150°C	DIF ^c	1 µl	28 ml/min
Acido acético	Chromosorb 102, 6 ft acero	190°C	210°C	210°C	DIF	variable	29 ml/min
Metanol y etanol	EGA ^b + 5% 2% H ₃ PO ₄ 7.5 ft níquel	80°C	150°C	150°C	DIF	1 µl	28 ml/min

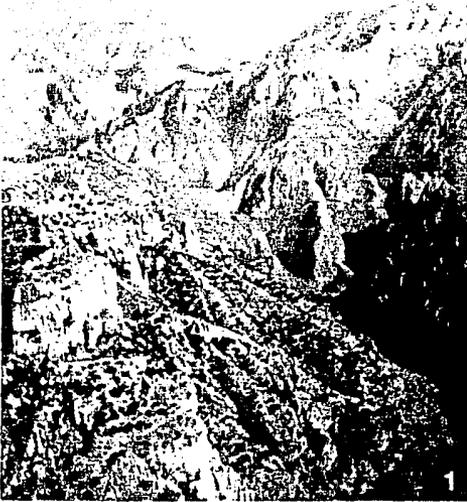
^a DEGS - Dietilen-glicol- succinato

^b EGA - Etilen-glicol-adipato

^c DIF - Detector de ionización de flama

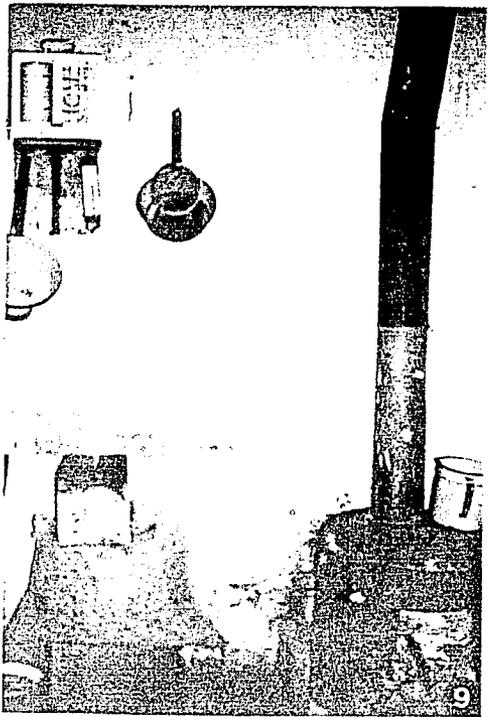
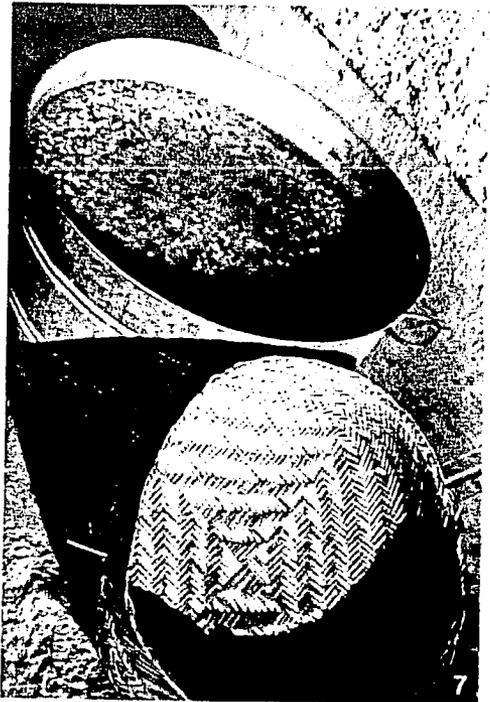
Figuras 1 - 5. Vistas de la Sierra Tarahumara y festividades de algunos grupos étnicos que consumen tesgüino.

1. Vista panorámica de la Sierra Tarahumara, en la zona del Divisadero, Chihuahua.
2. Vista de la región de Gonogochi, Sierra Tarahumara, Chihuahua.
3. Danzante tarahumara durante una festividad, en la que se consume tesgüino. Fot. de R. Jiménez, del Instituto Nacional Indigenista (INI).
4. Festividad huichola de año nuevo, en la que se ofrendan jícaras con tesgüino, en San Andrés Comamiata, Jalisco. Fot. de R. Jiménez, INI.
5. Típica tesgüinada de trabajo tarahumara, en la que las ollas de tesgüino constituyen la ofrenda principal de la festividad, en Cabórachi, Chihuahua. Fot. de A. Ríos, del Fondo Nacional para el Fomento de las Artesanías (FONART).



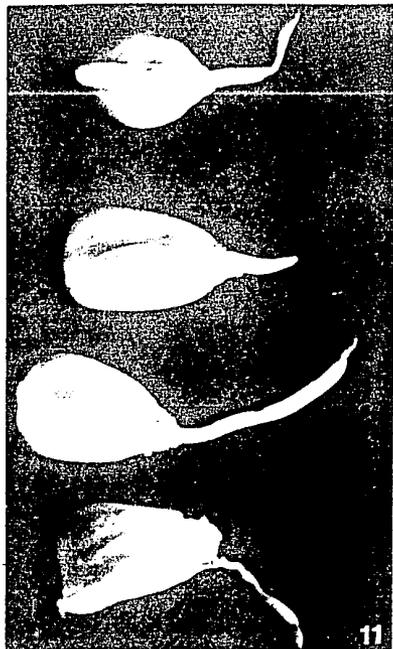
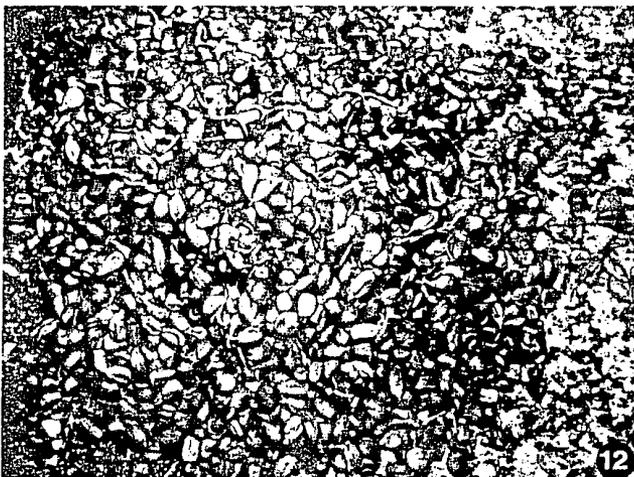
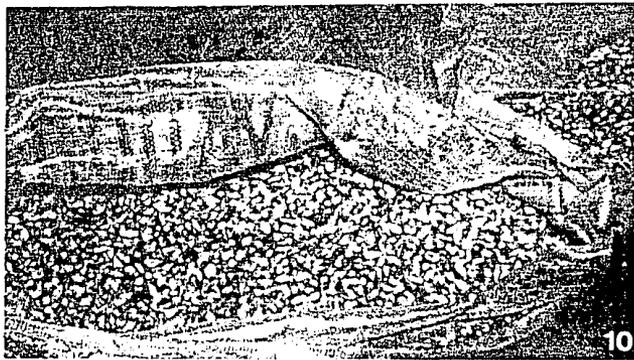
Figuras 6 - 9. Proceso de elaboración del tesgüino.

6. Mujer tarahumara limpiando el maíz (*Zea mays*) que se utilizaría en la elaboración del tesgüino.
7. Maíz en remojo, para promover su germinación.
8. Colado del maíz remojado a través de una cesta de fibra de yuca denominada *wari*.
9. Costal con el maíz remojado y escurrido, colocado cerca de una estufa para acelerar la germinación del grano.



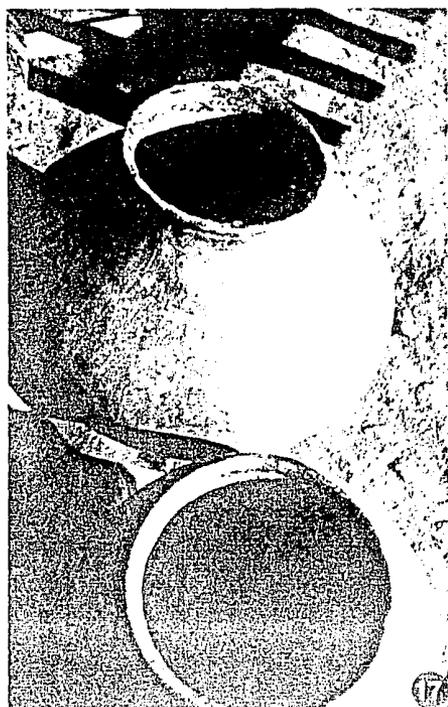
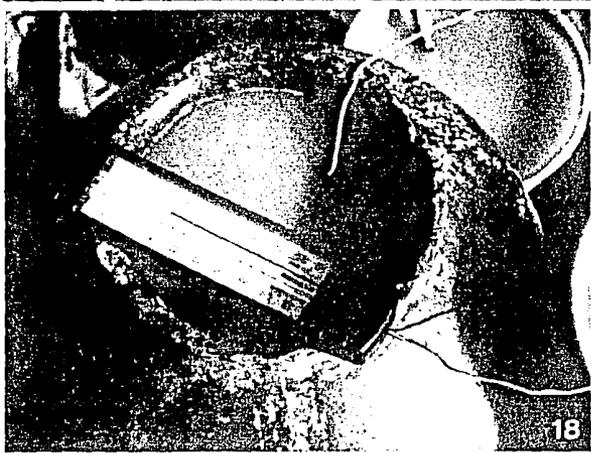
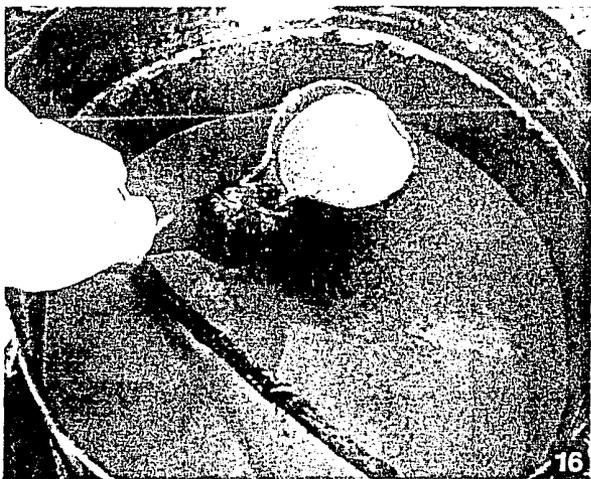
Figuras 10 - 14 . Proceso de elaboración del tesguino.

10. Costal con maíz germinado o malteado.
11. Maíz germinado con brotes de color amarillo, carentes de clorofila, necesarios para obtener un tesguino dulce.
12. Maíz germinado, X 3 .
13. Mujer tarahumara martajando el maíz germinado (malta) en un metate.
14. Masa de maíz germinado, de textura gruesa; lista para cocerse.



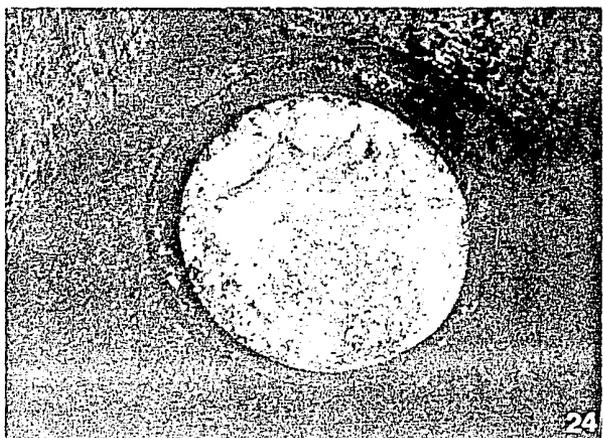
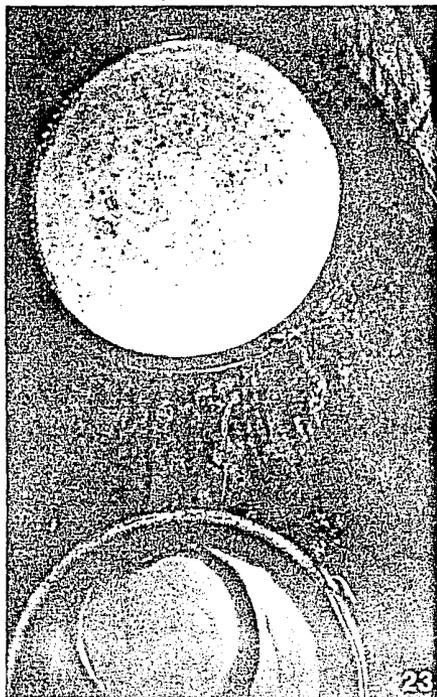
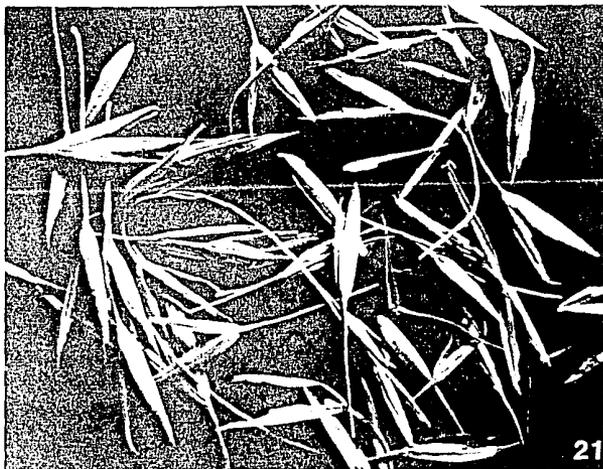
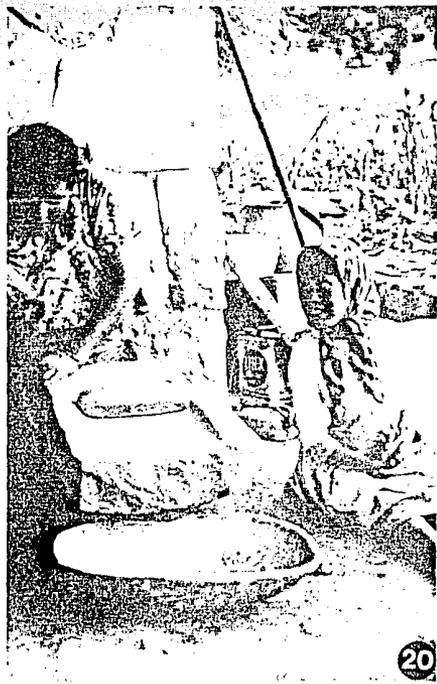
Figuras 15 - 19. Proceso de elaboración del tesgüino.

15. Cocción del atole de maíz, obtenido al diluir en agua la masa de maíz malteado.
16. Atole de maíz frío, listo para colarse a través de la *wari*.
17. Ollas de barro especiales, denominadas *sikoli donéla* (que hierven), que son utilizadas únicamente para la elaboración del tesgüino.
18. Olla tesgüinera con atole de maíz frío y colado. Se observa un termómetro, interior - exterior, utilizado para registrar los cambios de temperatura de la bebida y del ambiente durante el proceso de fermentación de la cerveza.
19. Casa de la familia Nevárez, en Gonogochi Chihuahua, en la que se llevó a cabo la fermentación del tesgüino.



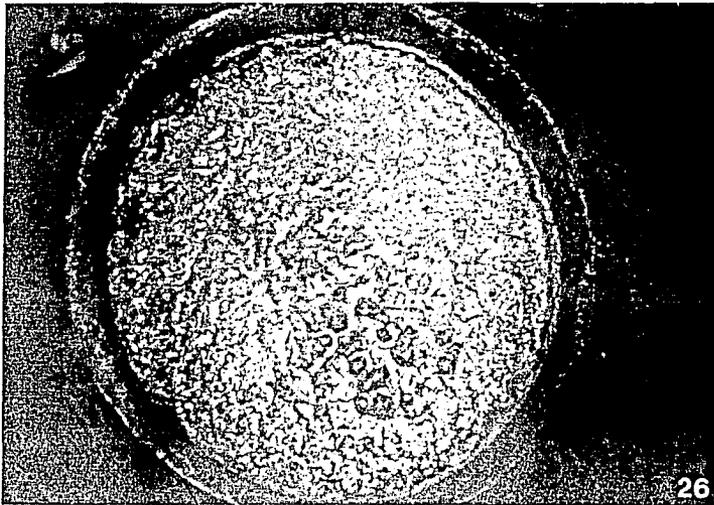
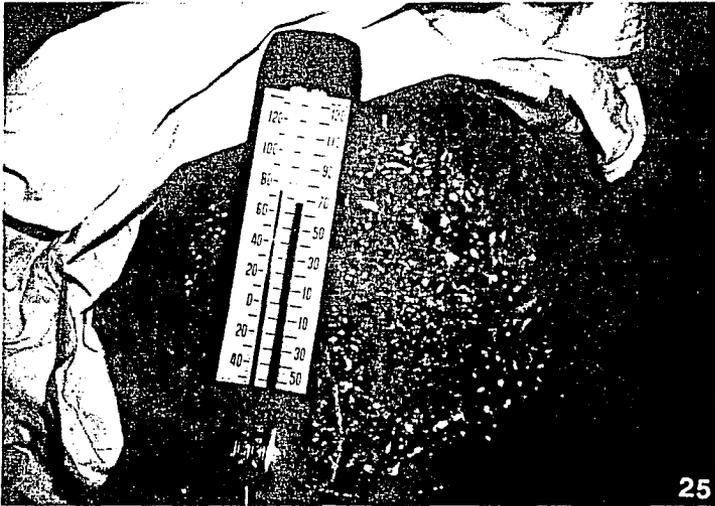
Figuras 20 - 24. Proceso de elaboración y fermentación del tesgüino.

20. Señora Nevárez moliendo el triguillo silvestre, denominado liga o *basiawi* (*Bromus arizonicus*)
21. Granos, brácteas y tallos de la liga, utilizados como catalizador para acelerar la fermentación del tesgüino, X 3.5.
22. Liga molida, mezclada con agua.
23. Olla tesgüinera con atole de maíz frío y colado recién mezclado con la suspensión de la liga molida.
24. Olla con tesgüino fermentando activamente, a las 24 horas.



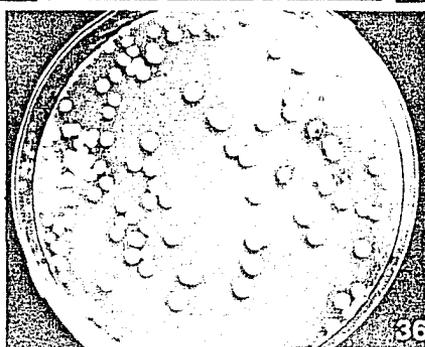
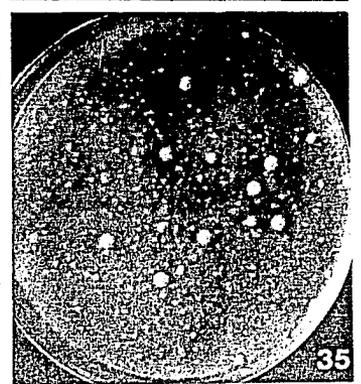
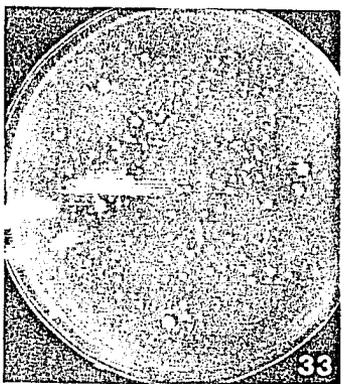
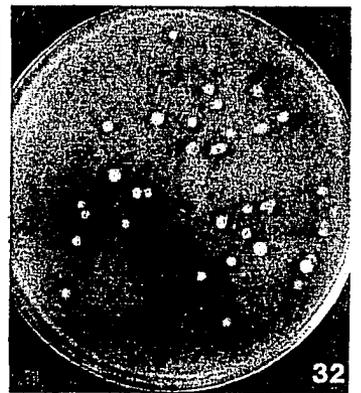
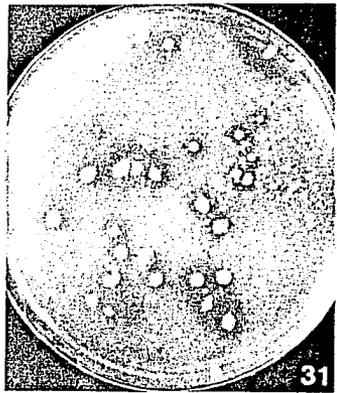
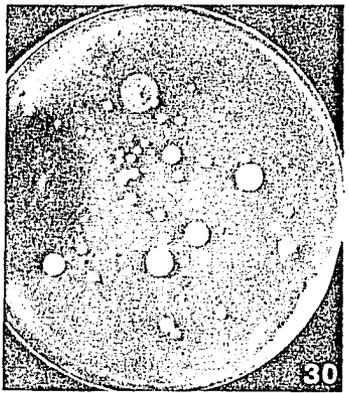
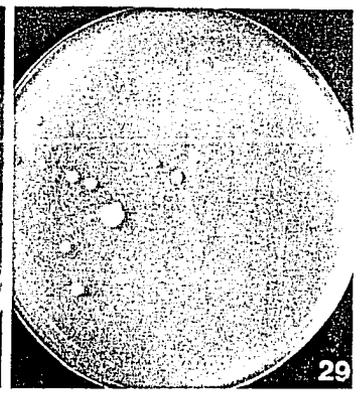
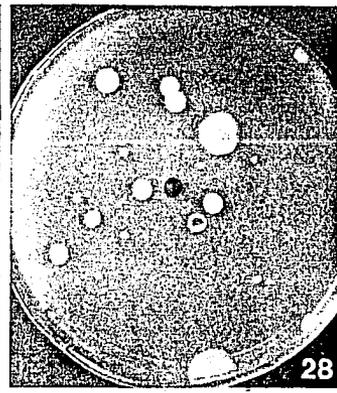
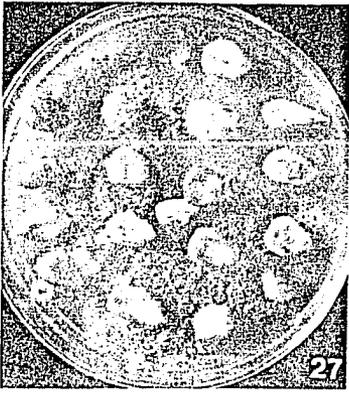
Figuras 25 - 26. Fermentación del tesgüino.

25. Olla con tesgüino fermentando activamente, y que presenta gran cantidad de burbujas de CO_2 en su superficie, a las 36 horas de fermentación.
26. Olla con tesgüino de 50 horas de fermentación, listo para ser consumido.



Figuras 27 - 37. Recuento y aislamiento de la microbiota presente en las diferentes etapas de elaboración y fermentación del tesgüino.

27. Granos de maíz amarillo, sembrados en placas de MSA, parcialmente invadidos por *Cladosporium cladosporioides*, *Eurotium rubrum*, *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* y *Phoma pomorum*, X 0.7.
- 28 - 36. Placas de JV₈A sembradas con 1 ml de las diversas diluciones preparadas a partir de muestras secuenciales de cada una de las fases de elaboración y fermentación del tesgüino, y que presentan la sucesión de la microbiota durante la evolución del proceso fermentativo. En estas placas pueden distinguirse colonias de bacterias lácticas (que se identifican fácilmente por el halo de disolución del CaCO₃ del medio, debido a la producción de ácido láctico y otros ácidos), de otras bacterias y de diversas levaduras como *Candida lusitanae*, *C. guilliermondii*, *C. pulcherrima*, *C. valida*, *Cryptococcus albidus* y *Saccharomyces cerevisiae*, X 0.7.
28. Dilución 1:10⁴ del atole cocido y colado. 29. 1:10⁶ de la liga molida. 30. 1:10⁵ de la mezcla del atole cocido y colado 1 con la liga. 31. 1:10⁷ del tesgüino de 20 horas de fermentación. 32 - 33. Diluciones 1:10⁸ de tesgüinos de 24 horas de fermentación, y de dos ollas diferentes. 34. 1:10⁸ de tesgüino de 30 horas de fermentación. 35 - 36. 1:10¹⁰ de tesgüino de 36 y 50 horas de fermentación, respectivamente.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la presente investigación se resumen en los cuadros 8 - 22 y en las figuras 143 - 148, y serán analizados y discutidos en la misma secuencia descrita en la metodología.

Cambios en la temperatura y humedad relativa ambientales, y en la temperatura del sustrato.

Durante todo el proceso de elaboración de la cerveza se registraron los cambios en la temperatura y humedad relativa ambientales (Cuadros 8 y 9). Es importante señalar que se distinguieron tres ambientes: uno a la intemperie (en el que se realizaron la cocción de la malta y el enfriamiento y el colado del atole), y dos bajo techo (en los que se llevaron a cabo el remojo y germinación del maíz, y el proceso fermentativo del tesgüino).

A la intemperie hubo una mayor fluctuación, tanto en la temperatura (mínima de 3.0°C y máxima de 24.0°C), como en la humedad relativa (mínima de 17% y máxima de 58%), mientras que bajo techo, aunque hubo fluctuaciones, no fueron tan marcadas. Esto fue importante ya que al no existir cambios notables en las condiciones ambientales (sobre todo en la temperatura) los procesos de germinación y fermentación se realizaron adecuadamente.

La temperatura de los diversos sustratos se midió en el momento de tomar las muestras para estudio, y se registra en el cuadro 9. Durante el remojo y germinación de los granos, se registró la temperatura del agua de remojo y la existente en el interior del costal, la que se mantuvo en un rango de 17.8 - 22.2°C. La

malta molida en el metate tuvo una temperatura de 21.1° C; el atole cocido se dejó enfriar hasta 30.0° C antes de colarse, y posteriormente, al presentar una temperatura de 21.7° C, se vació a la olla tesgüinera y se mezcló con el catalizador molido. Es muy importante que en el momento de vaciar el atole y mezclarlo con la liga esté frío, pues de lo contrario, si llega a calentarse la olla, el proceso fermentativo se altera y en lugar de tesgüino se obtiene una bebida ácida (por presencia de ácido láctico únicamente), parecida al jocoque (comunicación personal de la Sra. Nevárez). Esto posiblemente se debe a la inactivación por el calor de las levaduras presentes en el sedimento de la olla, que son las responsables de la fermentación alcohólica del sustrato, llevándose entonces a cabo sólo una fermentación láctica (por bacterias lácticas procedentes del ambiente, inoculadas en el atole durante su enfriamiento a la intemperie) en lugar de una láctica-alcohólica, que es característica de las cervezas tradicionales.

A partir de que se inició el proceso fermentativo la temperatura del sustrato fluctuó moderadamente, en comparación con los cambios observados en la temperatura ambiental, lo que probablemente se debió al aporte de calor liberado por el metabolismo de los microorganismos presentes en el sustrato.

Cambios en el pH y contenido de humedad del sustrato durante las diferentes etapas de elaboración y fermentación del tesgüino.

Durante el proceso hubo un decremento gradual de pH conforme avanzó el tiempo de fermentación (Cuadro 22, Fig.145). Los granos de maíz secos presentaron un pH inicial de 5, que se redujo a 4.7 durante el proceso de malteado (debido probablemente a la produc-

ción de ácido láctico por bacterias homo y heterolácticas presentes en los granos, y volvió a incrementarse a 5 después de la cocción de la malta. A partir de esta etapa, y a pesar de que se introdujeron al sistema fermentativo sustratos vegetales con pH de 5.5 (catalizador molido suspendido en agua) y de 5.0 (atole de maíz cocido y colado 2), el pH fue disminuyendo gradualmente (conforme se incrementaba la concentración de los ácidos láctico y acético producidos por bacterias y levaduras responsables de la fermentación) hasta alcanzar un valor de 3.0, a las 36 horas de fermentación; este valor se mantuvo constante hasta las 50 horas de fermentación. A este pH se produjo la ruptura parcial en la estructura coloidal de la cerveza, por lo que se sedimentaron algunos de los componentes de la bebida, otros se mantuvieron en suspensión, y únicamente los residuos de la liga permanecieron en su superficie. No obstante este cambio, la cerveza no se consideró descompuesta, como sucede con las cervezas africanas *busaa*, *burukutu* y *pito* (Ekundayo, 1969; Faparusi *et al.*, 1973; Nout, 1980a; 1980b), sino normal, y fue consumida en una tesgüinada de trabajo.

También, durante el proceso de elaboración y fermentación del tesgüino, se produjeron cambios en el contenido de humedad de los diversos sustratos. El contenido de humedad original del maíz (14.0%) se incrementó durante el remojo (38.8%) y malteado, y alcanzó 43.1% al final del proceso germinativo (brotes de 2 cm de longitud). La suspensión acuosa del maíz germinado y molido 1 tuvo un contenido de humedad del 83.3%, que se redujo a 81.0% durante el proceso de 12 horas de cocción, y se incrementó a 81.6% después de la adición de la suspensión de la liga molida (ésta con una humedad de 89.2%). Conforme avanzó el proceso fermentativo,

el contenido de humedad del sustrato se incrementó gradualmente (Cuadro 20) hasta alcanzar 90.4%, lo que posiblemente se debió a la disminución de los sólidos totales (ya que fueron utilizados por los microorganismos como sustrato en los procesos fermentativos) o a la actividad residual de las amilasas (de origen microbiano o supuestamente introducidas con el catalizador) sobre el almidón gelatinizado, lo que ocasionó el adelgazamiento del atole, fenómenos que también han sido observados en otras cervezas tradicionales como la *kaffir* (Novellie, 1968) y la *chicha* peruana (Escobar, 1977).

Principales cambios físicos, químicos y fisiológicos que se presentan durante la germinación de los granos de maíz.

Durante el proceso germinativo de cualquier semilla se distinguen cinco etapas importantes, que son: la imbibición de las semillas, la activación enzimática, la ruptura de las cubiertas de la semilla y la emergencia del embrión y, por último, el establecimiento de la plántula. Estas etapas se realizan en forma secuencial, y durante ellas se producen importantes cambios físicos, químicos y fisiológicos (Copeland, 1976; Derek Bewley y Black, 1983).

De las etapas mencionadas, únicamente la imbibición de los granos y la activación enzimática son importantes para el proceso de elaboración de la cerveza de cebada (Derek Bewley y Black, 1985), y supuestamente también en el caso del tesgüino. El malteado de los granos debe de realizarse bajo condiciones de humedad y temperatura reguladas para lograr la máxima modificación del endospermo, una producción adecuada de enzimas, y la reducción tanto en la movilización de las sustancias de reserva como en la utilización de los

productos de hidrólisis de dichas sustancias por la plántula, ya que representan la fuente de sustratos fermentables. Durante la imbibición se producen enzimas citolíticas (β 1-6 glucanasas), que hidrolizan los componentes de la pared del endospermo, exponiendo los granos de almidón, lo que los hace más accesibles al ataque de las amilasas. Además, las partículas de almidón (amilosa y amilopectina) presentes en los tejidos del grano (endospermo, principalmente) se hinchan, forman micelas coloidales y cambian de un estado sólido a gel, lo que también facilita su conversión enzimática en sustancias más simples (dextrinas, maltosa, galactosa y glucosa), que son utilizadas por los microorganismos durante el proceso de fermentación.

Durante el malteado, propiamente dicho, el ácido giberélico producido en el embrión promueve la síntesis de enzimas hidrolíticas (α - amilasa, β - amilasa, α - glucosidasa) y proteolíticas en la capa de aleurona. Estas últimas remueven los cuerpos de proteína que rodean los granos de almidón, facilitando su hidrólisis por enzimas amilolíticas. Además, durante esta fase se producen sustancias saborizantes que contribuyen en la calidad de la malta y en el sabor de la cerveza (Novellie, 1977; Derek Bewley y Black, 1985).

Sucesión de la microbiota durante la elaboración y fermentación del tesgüino.

Las especies de mohos y levaduras aisladas de las diferentes etapas del proceso de elaboración y fermentación se identi-

ficaron empleando las monografías y libros que se indican en la metodología. Las características taxonómicas distintivas de dichas especies se ilustran y describen en las figuras 37 - 142, y en los pies de figuras correspondientes.

La microbiota aislada de los granos de maíz (en los medios de MSA y JV₈A) se presentan en el cuadro 10, y fue determinada tanto en granos desinfectados como no desinfectados superficialmente; esto último se hizo con el objeto de registrar los microorganismos presentes como contaminantes en la superficie de los granos, ya que no fueron enjuagados antes de ponerlos en remojo para promover su germinación.

Con base en el grado de abundancia (%), en el que fueron aislados los hongos de los granos de maíz, a continuación se discuten las especies halladas (agrupándolas por géneros), dando prioridad a aquellas recuperadas del interior de los granos (maíz desinfectado superficialmente).

Fusarium moniliforme var. *subglutinans* Wr. y Reink. (Figs. 53 - 59) fue el moho aislado en mayor porcentaje. Es una variedad que se distingue de la especie típica por la presencia de polifiálides (Figs. 55 - 56). No obstante esta diferencia, ambas especies son frecuentemente confundidas, lo que ha dificultado el establecimiento correcto de su distribución geográfica. Dicha variedad es un hongo de campo que predomina en climas relativamente húmedos y fríos, y que ataca una amplia gama de hospederos, principalmente gramíneas como maíz y caña de azúcar (Marasas *et al.*, 1984). Bajo condiciones de almacenamiento permanece en estado de latencia (como esporas sobre el grano o como micelio latente

dentro de él), pero bajo ciertas circunstancias puede causar el ennegrecimiento del embrión o muerte de los embriones (Christensen y Kaufmann, 1969). Es un hongo que frecuentemente ha sido aislado de cereales (maíz, sorgo y mijo) y productos fermentados africanos, que tiene la capacidad de producir las micotoxinas zearalenona y moniliformina (Cook y Collins, 1972; Lovelace y Nyathi, 1977; Martin y Keen, 1978; Marasas *et al.*, 1979, 1984; Rabie *et al.*, 1982). En el presente estudio, este hongo fue aislado en un elevado porcentaje, tanto de la superficie (86%) como del interior de los granos de maíz (64%) utilizados en la elaboración del tesgüino, y algunos granos mostraron embriones ennegrecidos. Se desconoce si el aislamiento obtenido es toxígeno, por lo que sería interesante determinarlo, pues en estudios sobre cervezas africanas se ha establecido la presencia de micotoxinas, provenientes del maíz, en los productos fermentados elaborados con granos contaminados con *F. moniliforme* var. *subglutinans* (Lovelace y Nyathi, 1977; Martin y Keen, 1978).

Otro de los mohos aislados del interior de los granos en un porcentaje relativamente elevado (36%) fue *Eurotium rubrum* König, Spiekermann y Bremer (Figs. 42 - 46), hongo de almacén que invade maíz con un contenido de humedad de 14.5 - 15.0%, y cuya presencia indica que el grano empleado en la elaboración de la cerveza estuvo almacenado algún tiempo, con un contenido de humedad de 15 - 15.5% (Christensen y Kaufmann, 1969). Otra especie de *Eurotium* encontrada fue *E. chevalieri* Mangin (Figs. 37 - 41), que fue aislada como contaminante superficial de los granos (4%), al igual que *Aspergillus niger* van Tieghem (Figs. 48 - 49).

Phoma pomorum Thüm (Figs. 70 - 78) es un hongo habitante del suelo que ha sido aislado de gran variedad de vegetales muertos o enfermos, de la rizosfera de distintas plantas, y que es parásito de diversos vegetales (cacahuate, papa, durazno, manzana y otros). En el presente trabajo se aisló en un porcentaje bajo (6%) del interior de los granos desinfectados, lo que es interesante pues no se había registrado como parásito de maíz (Domsch *et al.*, 1980, Sutton, 1980).

Con respecto a las especies de *Penicillium* encontradas, hay que señalar que *P. chrysogenum* Thom (Figs. 63 - 64) y *P. waksarii* Zaleski (Fig. 68 - 69) son consideradas hongos saprobios habitantes del suelo, que presentan una amplia distribución geográfica, y que han sido aislados predominantemente de la rizosfera de distintas plantas y de material vegetal en descomposición, aunque también se han encontrado en productos almacenados (cereales, frutos deshidratados, nueces), alimentos congelados y alimentos fermentados. Ambas especies se aislaron del interior de los granos de maíz en porcentaje bajo (4 y 2% respectivamente). *Penicillium aurantiogriseum* Dierckx (Figs. 60 - 62) es un moho que comúnmente se encuentra asociado a cosechas (en estado de maduración o en proceso de secado), cereales y alimentos. Sin embargo, en el presente trabajo sólo fue aislado, en un porcentaje elevado (58%), como contaminante superficial de los granos, al igual que *P. echinulatum* Raper y Thom *ex* Fassatiová (Figs. 65 - 67), que es una especie ampliamente distribuida pero de ocurrencia escasa (Pitt, 1979; 1985; Domsch *et al.*, 1980).

Además de *F. moniliforme* var. *subglutinans*, otro hongo de campo

encontrado fue *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries (Figs. 50 - 52), que se aisló únicamente del interior del 2% de los granos.

Rhizopus arrhizus Fischer (Figs. 74 - 76) fue aislado, en un alto porcentaje (48%), como contaminante de la superficie de los granos. Es un hongo saprobio que se ha aislado predominantemente de suelos, de vegetales y frutos en estado de putrefacción, y de cereales, pero que además se ha empleado desde hace siglos en la elaboración del *tempeh* de Malasia y del *ragi* de Indonesia, y que junto con otros Mucorales y levaduras constituye la masa iniciadora de la fermentación de la cerveza de arroz (*pachwai*) de la India (Zycha *et al.*, 1969; Batra y Millner, 1974, 1976; Steinkraus, 1983; Hesseltine y Wang, 1986).

Analizando la frecuencia en la que se aislaron las distintas especies de hongos de los granos desinfectados o no superficialmente, se observa que de los mohos aislados del interior de los granos sólo *F. moniliforme* var. *subglutinans*, *E. rubrum* y *P. chrysogenum* se presentaron también en la superficie de los granos no desinfectados, siendo *F. moniliforme* var. *subglutinans* el más abundante (86%). El resto de las especies no se manifestó, debido probablemente a que fueron restringidas por los mohos que se encontraban como contaminantes superficiales de los granos, y que son de crecimiento rápido y vigoroso.

Cabe mencionar que, de los géneros de hongos encontrados en el maíz utilizado para elaborar el tesgüino (*Aspergillus*, *Penicillium* y *Rhizopus*), algunas de sus especies (*A. niger*, *A. flavus*, *A. oryzae*, *P. citrinum*, *P. funiculosum* y *R. arrhizus*) han sido registradas en estudios sobre la sucesión microbiana en cervezas africanas, asiáti

cas y mesoamericanas, como hongos amilolíticos, capaces de hidrolizar almidón mediante la producción de enzimas extracelulares. Estas actúan, conjuntamente con las amilasas liberadas por los granos durante el proceso de germinación o malteado, en la sacarificación del almidón, proporcionando los azúcares simples (dextrinas, maltosa, galactosa y glucosa) requeridos como sustrato en el proceso de fermentación (Platt y Webb, 1946; van der Walt, 1956; Ekundayo, 1969; Faparusi *et al.*, 1973; Nkanga, 1981; Litziuger, 1983; Batra, 1986).

Por lo anterior se consideró interesante conocer la capacidad amilolítica de los mohos encontrados en el maíz. Dicha capacidad se determinó mediante las técnicas de Gordon y Mihm (1959) y Ellis *et al.* (1974), evaluándose la actividad enzimática tanto por la clarificación del medio de cultivo amiláceo, como por la reacción del medio al lugol. Las cepas con mayor capacidad amilolítica fueron *A. niger*, *E. rubrum*, *F. moniliforme* var. *subglutinans*, *P. aurantiogriseum*, *P. chrysogenum*, *P. echinulatum*, *Phoma pomorum* y *R. arrhizus*, que clarificaron el medio de cultivo por completo, el que además tuvo una reacción amiloide negativa en presencia del lugol. *Cladosporium cladosporioides*, *E. chevalieri* y *P. waksmanii* manifestaron una actividad enzimática leve, por lo que los medios de cultivo permanecieron opacos y presentaron una reacción dextrinoide con el lugol. Sin embargo, aún cuando las cepas aisladas del maíz presentaron una cierta actividad amilolítica *in vitro*, para el caso del tesgüino se desconoce cuál es la importancia de las amilasas de origen fúngico durante el proceso de hidrólisis del almidón del maíz. Para evaluarlo hubiera sido necesario cuantificar los azú-

cares fermentables, producidos durante la hidrólisis del almidón tanto de granos germinados desinfectados, como de granos no desinfectados, como ha sido realizado en el caso de algunas cervezas africanas (Ekundayo, 1969; Nout, 1980a).

De la gran variedad de mohos presentes en la superficie o en el interior de los granos de maíz, sólo *E. rubrum*, *F. moniliforme* var. *subglutinans* y *R. arrhizus* persistieron en el maíz remojado y malteado (Cuadro 11). Esta selección de las especies de hongos inicialmente aisladas del maíz, probablemente se debió al incremento en el contenido de humedad de los granos durante el proceso de remojo (38.8%) y malteado (43.1%), que favoreció la presencia de especies comúnmente relacionadas con contenidos de humedad elevados, y la aparición de bacterias. Además, y aunque en este trabajo no fue determinado, se sabe que hay un aumento de temperatura durante el malteado de cualquier grano (Faparusi *et al.*, 1973; Copeland, 1976), el que también pudo haber influido en la persistencia de las especies de hongos. Así, el moho aislado en mayor porcentaje del interior de los granos remojados (54%) y malteados (50%) fue el hongo de campo *F. moniliforme* var. *subglutinans*. *Eurotium rubrum* también se obtuvo de los granos remojados (20%) y malteados desinfectados (16%), disminuyendo su frecuencia conforme aumentaba el contenido de humedad del maíz, lo que concuerda con la naturaleza de hongo de almacén de esta especie.

El hongo saprobio *R. arrhizus* persistió como contaminante superficial de los granos, y además fue aislado en un 2 y 14% (respectivamente) del interior de los granos remojados y malteados, favoreciendo probablemente su establecimiento dentro del grano,

tanto el incremento en su contenido de humedad y temperatura, como los cambios físicos y químicos realizados durante su germinación.

En lo que a las bacterias se refiere, debe mencionarse que se consideraron de manera global, cuantificando el porcentaje total de granos remojados y malteados invadidos por ellas (8 y 12% respectivamente). Esto se debió a que no todos los aislamientos se identificaron a nivel de género y a que se extraviaron algunas de las nomenclaturas de los diferentes aislamientos, lo que dificultó la determinación de la frecuencia de cada uno de ellos. Los géneros de bacterias que se identificaron en los granos remojados fueron *Lactobacillus* y *Leuconostoc*, y en los granos malteados *Streptococcus*, además de los ya mencionados. Dichos géneros pertenecen a las bacterias lácticas, y han sido aislados de granos y malta de sorgo, de mijo y de maíz, empleados en la elaboración de cervezas africanas y mesoamericanas. Tales microorganismos desempeñan un papel importante en el proceso de acidificación de la malta, durante el cual el pH se reduce hasta los niveles requeridos para la actividad de las amilasas (sintetizadas durante la germinación), asegurando una buena sacarificación del almidón y la obtención de azúcares fermentables (Platt y Webb, 1946; van der Walt, 1954; Ekundayo, 1969; Faparusi *et al.*, 1973; Nout, 1980 a; Nkanga, 1981).

Con respecto a las levaduras, se puede mencionar que no fueron aisladas ni de los granos remojados ni de los malteados.

A partir de la malta molida y hasta la última etapa de fermentación del tesgüino, la microbiota se determinó mediante la técnica de dilución en serie; los resultados se resumen en los

cuadros 14 y 15 y en las figuras 143 y 144. En la malta molida 1, sólo se detectaron bacterias (algunas pertenecientes a los géneros ya citados) y el mohó *F. moniliforme* var. *subglutinans*, mientras que en la malta molida 2, además de las bacterias, únicamente se aisló la levadura *Saccharomyces cerevisiae* Meyen *ex* Hansen (Figs. 112-116, Cuadros 16 y 18), que ha sido aislada de malta de mijo y malta de sorgo empleadas en la elaboración de las cervezas africanas *oyokpo* y *burukutu*, respectivamente (Faparusi *et al.*, 1973; Nkanga, 1981). En las diluciones estudiadas (1:10⁴ - 1:10⁶) no se encontró ninguno de los mohos previamente aislados de los granos molidos, ni ningún mohó nuevo (introducido durante la molienda de los granos); sin embargo, ello no implica que no hubiesen estado presentes en diluciones menores.

Durante la cocción de la malta, que duró alrededor de 12 horas, se eliminaron todos los microorganismos presentes en el sustrato, se llevó a cabo una gelatinización parcial del almidón y se inactivaron las amilasas sintetizadas durante la germinación del maíz. Se obtuvo así un atole espeso de color amarillo, constituido primordialmente por almidón gelatinizado, que confirió al atole su viscosidad, cuerpo y consistencia cremosa, y que mantuvo en suspensión los gránulos de almidón no gelatinizados y los residuos de los granos malteados, cambios que ya han sido descritos en otras cervezas, como la *kaffir*, *busaa* y *burukutu* (Novellie, 1968; Faparusi *et al.*, 1973, Nout, 1980a, 1980b).

Conforme se enfrió el atole (destapado y a la intemperie), se fue estableciendo una nueva microbiota, que posiblemente procedió del aire. Durante el proceso de colado (a través de una

cesta, Fig. 16) y vaciado del atole a las ollas tesgüneras, las fuentes de inóculo microbiano fueron los utensilios empleados en el colado, las manos de la persona que coló el atole, el sedimento de las ollas tesgüneras empleadas en fermentaciones anteriores, y los restos de maíz que quedaron en el cedazo y que se molieron nuevamente en el metate antes de añadirlos al atole.

Los primeros microorganismos que se manifestaron en el atole colado y frío fueron especies de bacterias, algunas de ellas homo y heterolácticas, pertenecientes a los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Streptococcus*. Dichas bacterias persistieron a lo largo del proceso de fermentación y a ellas se debió primordialmente la producción de ácidos láctico y acético. Es importante señalar que durante todo el proceso de fermentación del tesgüino las poblaciones de bacterias se cuantificaron en forma global, ya que no pudieron identificarse, a nivel de género, todos los aislamientos. Dichas poblaciones se incrementaron paulatinamente hasta las 36 horas de fermentación de la cerveza, y posteriormente decrecieron (Cuadro 15, Fig. 144).

Además de las bacterias, en el atole colado y frío aparecieron *P. aurantiogriseum* (moho que ya había sido aislado como contaminante del maíz empleado en la elaboración de la malta para el tesgüino) y tres especies de levaduras: *Candida lusitaniae* van Uden *et* do Carmo Sousa (Figs. 104-106, Cuadros 16 y 17), levadura con metabolismo oxidativo y fermentativo que ha sido aislada, por otros investigadores, de harina de maíz, piel humana y diversos alimentos; *Candida pulcherrima* (Lindner) Windish (Figs. 107-108, Cuadros 16 y 17), especie que se caracteriza por la produc

ción de clamidosporas unigutuladas, que contienen el pigmento pulquerrimina (esta especie ha sido aislada de néctar de flores, frutos, insectos, y alimentos y bebidas fermentados), y *Candida valida* (Leberle) van Uden *et* Buckley (Figs. 109 - 111, Cuadros 16 y 17), levadura predominantemente oxidativa, formadora de película y productora de ésteres, que ha sido encontrada en mosto de uva, vino, cerveza, bebidas fermentadas tradicionales (pulque, tesgüino, tejuino, colonche, tepache), masa de maíz, granos de sorgo y alimentos elaborados por fermentación láctica (Rose y Harrison, 1969; Lodder, 1970; Barnett *et al.*, 1979; Herrera y Ulloa, 1976 - 1982; Kreger van Rij, 1984).

En lo que a la liga se refiere, su microbiota fue determinada tanto en granos enteros, desinfectados o no superficialmente, como en los granos molidos. En el primer caso la microbiota se cuantificó en porcentaje de granos invadidos por cada especie (Cuadro 12), y en el segundo caso se cuantificó en número de colonias de cada especie por gramo de grano (Cuadro 14). En los granos desinfectados, únicamente se encontró *Phoma glomerata* (Cda) Wollenw. y Hochapf (Figs. 97 - 103) en un 12%, moho ubicuo que ha sido aislado de suelo, de la rizosfera de cacahuete, de material vegetal muerto, de semillas y de la planta de trigo, pero que también ha sido registrado como patógeno del hombre (Sutton, 1980; Domsch *et al.*, 1980). De la superficie de los granos se aislaron 13 especies de mohos y una levadura. De los mohos, el más abundante fue *P. aurantiogriseum* (26%), que junto con *P. chrysogenum* (12%) ya habían sido aislados en este estudio como contaminantes del maíz (Cuadro 11). La otra especie de *Penicillium* encontrada fue *P. minioluteum* Dierckx (12%,

Figs. 92 y 93), hongo cosmopolita habitante del suelo y causante de biodeterioro (bajo condiciones de alta humedad relativa), que ha sido aislado de suelo, pintura, madera, alimentos congelados y alimentos para aves (Pitt, 1979).

Epicoccum purpurascens Ehrenb. ex Schlecht (Figs. 90 y 91), que es considerado como un invasor secundario de tejidos vegetales muertos, presenta una amplia distribución geográfica y ha sido aislado de distintos sustratos (considerando entre ellos semillas de diversas plantas, principalmente *Avena fatua* Linneo); fue aislado de 18% de los granos de la liga.

Del género *Cladosporium* se encontraron las especies *C. colocasiae* Swada (Figs. 80 y 81) y *C. cladosporioides*. La primera es una especie de distribución restringida, que sólo se había aislado de hojas de *Colocasia* spp. (Ellis, 1971); fue aislado del 18% de los granos de la liga. La segunda especie es abundante y cosmopolita (considerada como un hongo de campo) y también fue encontrada en maíz; se aisló de un 10% de los granos del catalizador.

De las especies de *Aspergillus*, *A. niger* fue la más frecuente (12%). *Aspergillus flavus* Link (Figs. 83 - 85), que es considerado un hongo de almacén, fue aislado únicamente de 2 % de los granos. *Eurotium repens* De Bary (Figs. 86 y 87) y *E. rubrum*, que son los estados perfectos de especies de *Aspergillus* (*A. repens* y *A. ruber*, respectivamente) pertenecientes al grupo *Aspergillus glaucus*, y que también son catalogadas como hongos de almacén (Christensen y Kaufmann, 1969), se recuperaron en un 12 y 10%, respectivamente.

Rhizopus nigricans (Ehrenb.) Corda (Figs. 94 y 95), que es un

mucoral de distribución cosmopolita, aislado de muy diversos sustratos (entre los que podrían mencionarse semillas de trigo, avena, arroz y diversos alimentos) fue aislado del 6% de los granos, y *Alternaria alternata* (Fr.) Keisser (Figs. 77 - 79), hongo de campo que frecuentemente se asocia a granos de trigo y cebada, fue encontrado sólo en un 2% de los granos de la liga.

La única especie de levadura aislada de la liga (12%) fue *Candida guilliermondii* (Cast.) Langeron *et* Guerra (Figs. 128 - 130, Cuadros 16 y 17); presenta un metabolismo fermentativo y oxidativo y es formadora de película. Ha sido aislada de muy diversos sustratos, como piel, uñas, sangre, excremento de animales, aire, alimentos convencionales y alimentos y bebidas tradicionales (como el *enjara* de Etiopía, las cervezas africanas *kaffir*, *burukutu* y *pito* entre otros, y las bebidas mexicanas pozol y pulque); además, es considerada un organismo patógeno oportunista (van der Walt, 1956; Stewart y Getachew, 1962; Rose y Harrison, 1969; Ekundayo, 1969; Lodder, 1970; Faparusi *et al.*, 1973; Herrera y Ulloa, 1976 - 1982; Kreger van Rij, 1983).

De la gran variedad de mohos presentes en los granos enteros de la liga, ninguno fue aislado de los granos molidos (diluciones $1:10^4$ - $1:10^6$), lo que pudo deberse a que hayan sido eliminados durante el proceso de remojo y molienda de los granos (ya que la mayoría estaban como contaminantes), o a que se encontraban en los granos en poca cantidad y que con el grado de dilución empleado no se hayan manifestado. Sin embargo, se aislaron el moho *Aspergillus versicolor* (Vuill.) Tiraboschi (Figs. 88 - 89) y la levadura *C. valida*, que posiblemente se introdujeron durante

la molienda del catalizador (Cuadro 14).

A todos los mohos aislados de los granos de la liga y de la liga molida se les determinó su capacidad amilolítica, utilizando las mismas técnicas aplicadas para los mohos aislados del maíz. *Alternaria alternata*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. versicolor*, *E. rubrum*, *P. aurantiogriseum*, *P. chrysogenum* y *Ph. glomerata* hidrolizaron por completo el almidón del medio, el que se clarificó totalmente y presentó una reacción negativa al lugol, mientras que *C. cladosporioides*, *C. colocasiae*, *E. repens*, *Epicoccum purpurascens*, *P. minioluteum* y *R. nigricans* presentaron una reacción enzimática débil, pues los medios de cultivo permanecieron opacos y presentaron una reacción dextrinoide con lugol. Hay que señalar que, de la misma manera que con los mohos aislados del maíz, estos resultados se obtuvieron *in vitro*, por lo que también se desconoce si las enzimas de origen fúngico tienen una función importante en la hidrólisis del almidón del atole de maíz, al cual se le adicionó la liga como catalizador.

De la microbiota encontrada en la liga (granos enteros y molidos), únicamente *C. guilliermondii* persistió en las etapas subsiguientes de fermentación, por lo que se considera (contrariamente a lo que se pensaba) que la liga, más que una fuente se inóculo, podría ser una fuente de enzimas (amilasas que promueven la conversión del almidón gelatinizado o no, y proporcionan los azúcares necesarios en la fermentación, o proteasas), de fenilaminas que inhiben el desarrollo de algunos microorganismos, o de factores de crecimiento necesarios para el establecimiento de los diferentes microorganismos responsables de la fermentación (Ben-

nett y Zingg, 1935; Pennington, 1963, 1969; Litzinger, 1983).

Con el propósito de establecer cuál era el papel de la liga en el proceso de fermentación, se hicieron pruebas para detectar la presencia de amilasas y proteasas utilizando las técnicas descritas en la metodología. En ninguno de los casos se detectó actividad enzimática (amilolítica o proteolítica), por lo que la liga posiblemente contenga las fenilaminas o los factores de crecimiento, lo que sin embargo no fue investigado.

La principal fuente de inóculo, de acuerdo al presente estudio, la constituye el sedimento de la olla tesguinera (Cuadro 13, Fig. 135), ya que de él se aislaron las levaduras *Brettanomyces intermedius* (Trumbholz et Tauschanoff) van der Walt et van Kerken (Figs. 136 - 138), *Hansenula anomala* (Hansen) H. et Sydow (Figs. 112 - 116) y *S. cerevisiae*, especies que se presentaron en las etapas tempranas de fermentación, o que persistieron a lo largo del proceso, incrementando sus poblaciones, en forma significativa, en las etapas finales del mismo (36 y 50 horas de fermentación; Cuadro 14, Fig. 143).

Brettanomyces intermedius se caracteriza por la producción vigorosa de ácido acético a partir de glucosa, y de etanol, y por la formación de células vegetativas ovoidales, elipsoidales, cilíndricas a elongadas (Cuadros 16 y 17). Es una levadura fermentadora y oxidativa que se ha aislado de diversos sustratos relacionados con la industria vinícola y cervecera (mosto de uva, equipo contaminado empleado en la elaboración de vinos, y cerveza de sorgo), así como de tibicos (zoogreas compuestas por bacterias y levaduras en simbiosis, que se utilizan en México para elaborar tepache y vinagre de tibicos), y que es la responsable de la fermentación es

pontánea de las cervezas belgas *lambic* y *geuse*, a las que confiere su aroma (van der Walt, 1956; Lodder, 1970; Rose y Harrison, 1970; Nout, 1980a; Kreger van Rij, 1983; Taboada *et al.*, 1987). Fue encontrada en el sedimento de la olla tesgüinera y en la mezcla del atole de maíz con la liga (dilución 1:10⁴), pero no en las fases subsiguientes de la fermentación, lo que posiblemente se debió a que por ser una levadura con crecimiento lento, poco competitiva, que incrementa sus poblaciones lentamente, quedó enmascarada por otras levaduras más competitivas y con un crecimiento acelerado, por lo que para detectarla quizá hubiera sido necesario utilizar una serie de diluciones más concentradas a las empleadas (1:10⁶ - 1:10¹⁰) en la determinación de la microbiota.

Hansenula anomala es una levadura osmófila, formadora de película, que presenta un metabolismo fermentativo y oxidativo (Cuadros 16 y 18). Ha sido aislada de muy diversos sustratos, como cervezas tradicionales africanas (*munkoyo*, *burukutu*, *kaffir*) y cervezas asiáticas (*pachwai*), a las que proporciona, por medio de los ésteres sintetizados a partir del alcohol producido durante la fermentación, aroma y sabor característicos, y que además, por formar película, les confiere cierta turbidez (van der Walt, 1956; Rose y Harrison, 1969; Faparusi *et al.*, 1973; Batra, 1986; Müller, 1986). Fue aislada inicialmente del sedimento de la olla tesgüinera, pero persistió durante todo el proceso fermentativo junto con *S. cerevisiae*, que es la levadura fermentadora por excelencia, y que se ha encontrado en una gran variedad de productos fermentados tradicionales, como las cervezas africanas (*burukutu*, *busaa*, *merissa*, *kaffir*, *pito*, *oyokpo*), asiáticas (*pachwai*, *chiang*) y america-

nas (*chicha*), incluyendo todas las bebidas fermentadas mexicanas estudiadas: colonche, pulque, tejuino, tesgüino, tepache y tuba (van der Walt, 1956; Ekundayo, 1969; Nout, 1980a, 1980b; Steinkraus, 1981; Herrera y Ulloa, 1976 - 1982; Batra, 1986; Müller, 1986).

Además de los organismos mencionados (Cuadro 13), del sedimento de la olla tesgüinera se aislaron la levadura *Rhodotorula rubra* (Demme) Lodder (Figs. 139 - 140, Cuadros 16 y 18), de metabolismo oxidativo, que ha sido encontrada predominantemente en ambientes marinos (aunque también ha sido aislada de cerveza), y los mohos *P. aurantiogriseum* (que ya se había encontrado en el maíz y en la liga empleados en la elaboración del tesgüino) y *P. roquefortii* Thom (Figs. 141 - 142), que es un organismo ampliamente distribuido, de rápido crecimiento a bajas temperaturas, y causante del biodeterioro de alimentos refrigerados (Pitt, 1979; Kreger van Rij, 1983). Tanto esta levadura como los dos penicilos ya no se presentaron en las etapas subsecuentes del proceso.

Además, asociados al sedimento de la olla se encontraron restos de larvas, pupas y organismos adultos de palomillas (orden Lepidoptera, familia Thyrididae), responsables de la producción de delgados hilos de seda con los que entrelazaron los restos vegetales y minerales depositados en las paredes de la olla tesgüinera, y que constituyeron el sedimento de la misma.

Desde que se inició el proceso de fermentación (atole cocido y colado 1 + liga → tesgüino de 50 horas de fermentación) se llevó a cabo un incremento en las poblaciones de microorganismos. Las bacterias, principalmente las lácticas, incrementaron sus poblacio

nes paulatinamente (ayudadas, probablemente, por el aporte externo de vitaminas del complejo B liberadas durante la autólisis de las levaduras auxótrofas), alcanzando su valor máximo a las 36 horas de fermentación (Cuadro 15, Fig. 144).

En lo que a las levaduras se refiere, sus poblaciones variaron a lo largo del proceso fermentativo, pues mientras algunas especies que estuvieron presentes en las primeras etapas (atole cocido y colado 1 + liga) desaparecieron después; otras incrementaron notablemente sus poblaciones y predominaron en las fases finales de la fermentación. Las especies que ya no se encontraron en las etapas subsecuentes del proceso, al menos en las diluciones empleadas en el estudio de la microbiota (Cuadro 4), fueron *B. intermedius* (que ya se había aislado del sedimento de la olla) y *Cryptococcus albidus* (Saito) Skinner (Figs. 117 - 119, Cuadros 16 y 18), levadura predominantemente oxidativa que ha sido aislada de diversos sustratos, incluyendo alimentos convencionales y productos fermentados (*sake moto*), y que es considerada como un patógeno oportunista (Barnett *et al.*, 1979; Rose y Harrison, 1969; Kreger van Rij, 1981).

Candida guilliermondii, *H. anomala* y *S. cerevisiae* fueron las especies que, junto con *Saccharomyces kluyveri* Phaff, Miller *et* Shifrine (Figs. 131 - 134, Cuadros 16 y 18), persistieron durante la fermentación, y cuyas poblaciones se incrementaron lentamente (Cuadro 14, Fig. 143). No obstante, en la fase final de la fermentación (50 horas) las poblaciones de *H. anomala* y *S. kluyveri* decrecieron, la de *C. guilliermondii* mantuvo un incremento lento, y la de *S. cerevisiae* continuó aumentando hasta predominar, como especie única, en las eta

pas más avanzadas de fermentación, lo que en cierta forma explicaría el aislamiento de sólo esta especie en las muestras de tesgüino (de más de 50 horas de fermentación) estudiadas por Herrera y Ulloa (1973) y Litzinger (1983). Es importante señalar que, aunque esta última especie es la única que ha sido constantemente aislada de todas las muestras de tesgüino estudiadas (Herrera y Ulloa, 1973; Litzinger, 1983), por los resultados obtenidos en la presente investigación no debe considerársele como la única levadura responsable de la fermentación, pues aunque haya predominado en las fases avanzadas del proceso, en las etapas tempranas convivió junto con otras levaduras fermentadoras (*C. guilliermondii*, *H. anomala* y *S. kluyveri*), que también desempeñan un papel importante en la elaboración de diversas cervezas africanas y asiáticas (van der Walt, 1954; Bernier y Lambrechts, 1959; Faparusi *et al.*, 1973; Batra y Millner, 1974, 1976).

Los resultados de los estudios de sucesión de la microbiota durante el proceso de elaboración y fermentación del tesgüino indican que los microorganismos involucrados en el proceso fermentativo son bacterias homo y heterolácticas (especies de *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Streptococcus*) y levaduras (*C. guilliermondii*, *H. anomala*, *S. cerevisiae* y *S. kluyveri*), que llevan a cabo, simultáneamente, una fermentación láctica y alcohólica, seguida de una alcohólica y acética, lo que concuerda con los estudios realizados sobre las cervezas tradicionales africanas y mesoamericanas (van der Walt, 1956; Ekundayo, 1969; Faparusi *et al.*, 1973; Nout, 1980a, 1980b; Nkanga, 1981; Steinkraus, 1983).

Otros de los microorganismos que probablemente proporcionan al

tesgüino algunas de sus características distintivas son las levaduras oxidativas, formadoras de película (*C.guilliermondii* y *H. anomala*), que sintetizan, a partir de glucosa y alcohol, ésteres con aroma y sabor característicos, y que al formar películas, en presencia de ácido láctico sobre la superficie del sustrato en reposo, confieren una cierta opacidad a la bebida, como ocurre también con la cerveza africana *oyokpo* (Nkanga, 1981).

Sin embargo, para determinar con exactitud el papel de cada uno de los microorganismos en el proceso de elaboración del tesgüino, es necesario realizar una serie de fermentaciones individuales con sustratos estériles, y empleando por separado los diferentes microorganismos encontrados, o combinando algunos de ellos, para comparar el producto final obtenido (análisis físico, químico y bromatológico) con la bebida elaborada en forma tradicional, además de evaluar la aceptación de tales productos por los indígenas que habitualmente preparan y consumen el tesgüino.

Resultados de los análisis bromatológicos.

Durante las diversas fases de elaboración y fermentación del tesgüino se obtuvieron muestras representativas para determinar su contenido de nitrógeno total, proteína, cenizas, grasas, niacina, riboflavina y sólidos totales, utilizando las técnicas señaladas en materiales y métodos. Los resultados obtenidos se resumen en los cuadros 19 - 21, y en las figuras 145 - 147, y se presentan tanto en base seca (g/100g de muestra) como en base húmeda (g/100 ml de muestra), ya que en la bibliografía consultada se registran de las dos maneras (Aucamp *et al.*, 1961; Morcos *et al.*, 1973; Escobar, 1977; Lovelace, 1977).

Debido a que durante el proceso de elaboración y fermentación de la cerveza se adicionaron, en forma secuencial, diversos sustratos vegetales (suspensión acuosa de la liga molida y atole de maíz cocido y colado) al sistema fermentativo, el análisis de algunos compuestos (nitrógeno total y proteína), determinados en el bromatológico (y que presentaron un incremento al final del proceso), se realizó a partir de las 24 horas de fermentación del tesgüino y hasta el final de la fermentación (lapso en el que ya no se adicionaron otros elementos al sistema), para evitar la influencia de las variables externas. El análisis de los compuestos que presentaron una fluctuación leve a lo largo del proceso (grasas, cenizas, niacina y sólidos totales) se realizó considerando cada una de las fases, y sólo las grasas y los sólidos totales se evaluaron además considerando únicamente el período comprendido entre las 24 y 50 horas de fermentación.

En lo que a las proteínas se refiere, éstas aumentaron conforme avanzó el proceso fermentativo (Cuadros 19 - 21, Fig. 146), y presentaron un incremento del 59.4%; este valor se obtuvo dividiendo g proteína/ml entre g sólidos totales/ml. Sin embargo, como dicha relación evalúa las proteínas totales, y como los sólidos totales disminuyeron conforme transcurrió la fermentación (pudiendo afectar la evaluación real de las proteínas), para determinar el aumento de dichos compuestos se consideró necesario calcular su porcentaje de incremento neto, utilizando la fórmula descrita en el cuadro 21. El porcentaje de incremento así obtenido fue de 58.02, lo que señala la existencia del fenómeno de fijación de nitrógeno atmosférico elemental en el tesgüino estudiado, que se verificó al calcular el incremento neto de nitrógeno

en el sistema (de 20 - 50 horas de fermentación), que fue de 57.11.

La fijación de nitrógeno es un fenómeno que ya se había registrado en otros alimentos fermentados indígenas de México, como el pozol (Ulloa *et al.*, 1971; Taboada *et al.*, 1971; Ulloa y Herrera, 1972), el pulque y el tesgüino (Herrera *et al.*, 1972). Es un proceso reductor que realizan algunos organismos procariontes bajo condiciones de anaerobiosis (aunque también puede realizarse bajo condiciones microaerofílicas), y que en ciertos sustratos y condiciones se ve favorecido por la presencia de ácido láctico (Muñoz y Viniestra, 1981; Leal *et al.*, 1987), por lo que la existencia de tal compuesto en el tesgüino (Cuadro 22), pudo influir en la fijación de nitrógeno por bacterias presentes en la cerveza. Dichas bacterias fueron aisladas en medio de Lipman pero no se estudiaron.

No obstante que durante el proceso fermentativo del tesgüino, comprendido entre las 24 y 50 horas, se detectó un incremento significativo de proteína, se consideró necesario evaluar dicho aumento en relación con el contenido inicial de proteína y cenizas del maíz (en base seca [Cuadro 19], y de acuerdo a la fórmula descrita en el Cuadro 21), ya que dicho cereal constituye, junto con otros vegetales, la dieta básica de los tarahumaras, y grandes cantidades del grano son destinadas para la elaboración de la cerveza (Bennett y Zingg, 1935; Pennigton, 1963; Kennedy, 1978). El porcentaje de incremento neto de proteína en relación a la materia prima fue del 34.02%, por lo que el tesgüino, además de ser una bebida alcohólica, debe ser considerado como un complemento alimenticio importante de la dieta de los grupos étnicos que regularmente lo consumen.

Con respecto a la cantidad de grasas, ésta fue fluctuando durante el proceso de elaboración y fermentación de la cerveza (Cuadros 19 y 20). El contenido inicial presente en el maíz disminuyó durante el malteado, debido probablemente a la movilización y metabolismo de las sustancias de reserva durante la germinación (Derek Bewley y Black, 1983), la cocción del atole y la mezcla del atole con la liga. Posteriormente se incrementó de manera paulatina hasta alcanzar su valor máximo a las 36 horas de fermentación, que fue ligeramente más alto que el inicial en el maíz, para posteriormente decrecer. Si se compara el contenido inicial de grasa en el maíz con el contenido al final de la fermentación, se observa que hubo un decremento del 30.3% (calculado en base seca, Cuadro 19). No obstante, si se analizan las fluctuaciones en el contenido de grasa a partir de las 24 horas de fermentación y hasta el final de la misma, se observa un aumento del 189.4% a las 36 horas, y del 82.2% a las 50 horas de fermentación, valores que se relacionan con los cambios en las poblaciones de los microorganismos presentes (Cuadro 15, Fig. 144). Si se hace un balance general, se puede ver que la reducción en el contenido inicial de grasas se realizó durante las primeras fases de elaboración de la cerveza (malteado, cocción y colado del atole y mezcla del atole con la liga) y no durante el proceso fermentativo.

El contenido de cenizas permaneció más o menos constante (Cuadros 19 y 20), mientras que la niacina varió. El contenido inicial de niacina del maíz (0.76 mg/ml) disminuyó durante la germinación de los granos, la cocción y colado del atole, y durante las primeras etapas de fermentación (Fig. 147). Este decremento durante la germinación y las primeras fases de fermentación probable-

mente se debió al desarrollo de bacterias lácticas que requieren del aporte externo de vitaminas del complejo B para su crecimiento, y la disminución durante la cocción y colado del atole posiblemente se debió a la eliminación de los residuos del maíz durante el colado. Después de las 24 horas de fermentación, el contenido de niacina se fue incrementando paulatinamente, alcanzó su valor máximo a las 30 horas de fermentación y posteriormente decreció. Esta fluctuación probablemente se debió al catabolismo y anabolismo de los microorganismos presentes, que requirieron del aporte externo de niacina para poder crecer (bacterias lácticas, *H. anomala* y *C. guilliermondii*), o que fueron capaces de sintetizarla (*S. cerevisiae* y *S. kluyveri*).

En lo que a la riboflavina se refiere, es importante señalar que con el método fluorométrico utilizado no fue posible detectarla.

Durante todo el proceso hubo una fluctuación en los sólidos totales, los que se incrementaron durante el proceso de cocción del atole, debido a la evaporación del líquido; posteriormente disminuyeron en forma gradual conforme avanzó el proceso fermentativo. Evaluando únicamente los cambios registrados durante el período comprendido entre las 24 y 50 horas de fermentación, y considerando a los sólidos totales presentes a las 24 horas como el 100%, se observó un decremento total del 32.4%. Se considera que este decremento se debe al biodeterioro de la materia orgánica por los procesos de respiración y fermentación de los microorganismos, que la transforman en CO_2 , H_2O , etanol, ácido acético y otros compuestos volátiles, principalmente aldehídos y ésteres.

Cambios en el contenido de ácido láctico, ácido acético, etanol y metanol durante el proceso de elaboración del tesgüino.

Por medio de cromatografía de gases (Cuadro 7), se cuantificó el contenido de ácido láctico, ácido acético, etanol y metanol (Cuadro 22, Fig. 148). Todos estos compuestos se encontraron desde las primeras fases del proceso, y su concentración permaneció más o menos constante (metanol), o se fue incrementando conforme avanzó el proceso fermentativo. El contenido de ácido láctico y etanol aumentó notablemente durante las primeras 20 horas de fermentación, debido seguramente al incremento en las poblaciones de microorganismos que producen tales metabolitos (bacterias lácticas y levaduras fermentadoras, como *H. anomala*, *S. kluyveri* y *S. cerevisiae*). Además, empezó a acumularse ácido acético, producido por la levadura *B. intermedius* (que fue aislada del sedimento de la olla y de la mezcla del atole con la liga, aunque no fue detectada en las fases subsecuentes de fermentación, al menos en las diluciones estudiadas), y por bacterias heterolácticas. Dicha levadura, como ya se mencionó en la sección correspondiente al estudio de microbiota, es poco competitiva y se caracteriza por la producción de ácido acético a partir de glucosa. Conforme transcurrió la fermentación, la concentración de los tres productos aumentó. Sin embargo, en la fase final del proceso, mientras que la cantidad de ácido láctico disminuyó, se incrementó la de ácido acético, por lo que el pH (con valor de 3) se mantuvo constante (Fig. 145).

De los cuatro productos cuantificados, el etanol fue la sustancia que más se acumuló en el sustrato (3.73%); este valor es muy semejante al encontrado por Litzinger (1983) en diferentes

muestras de tesgüino, y al registrado por diversos autores en cer^{ve}zas africanas, asiáticas y mesoamericanas (Müller, 1970; Escobar, 1977; Lovelace, 1977; Novellie, 1977, 1986; Nout, 1980a, 1980b; Ba^{tr}a, 1986). El etanol fue primordialmente producido durante el me^{ta}bolismo fermentativo de las especies de *Saccharomyces* que predomi^{na}ron en la fase final de fermentación, y debe ser considerado no sólo un estimulante sino también como una fuente inmediata de ca^{lo}orías. Esto explica la costumbre ancestral que tienen algunas co^{mu}nidades de consumir cervezas tradicionales semejantes al tesgüi^{no} (*kaffir*, *pito*, *chicha* y cerveza opaca de maíz), antes y durante la realización de un trabajo físico pesado (Bennett y Zingg, 1935; Platt, 1955; Pennigton, 1963; Miracle, 1965; Ekundayo, 1967; No^{ve}llie, 1968; Lovelace, 1977; Kennedy, 1978; Litzinger, 1983; An^túñez de Mayolo, 1984). Dichas cervezas desempeñan un papel muy importante en las actividades de diversas comunidades, y son un buen ejemplo, según los antropólogos (Horton, 1945; Platt, 1955; Kennedy, 1978), del comportamiento "beber juntos - trabajar juntos", que en la actualidad se observa todavía en diversas partes del mun^{do}, con gran relevancia social y económica.

En lo que al ácido láctico se refiere, su concentración ma^{yo}r en el tesgüino (0.406%) se presentó a las 36 horas de fermen^{ta}ción (valor muy semejante al encontrado por Faparusi *et al.*, 1973, en la cerveza *burukutu*, y por Nkanga, 1981, en la *oyokpo*); posterior^{men}te decreció, probablemente debido a la disminución en la pobla^{ci}ones de bacterias homo y heterolácticas que lo sintetizan (Cua^{dro} 15, Fig. 144). Este ácido es sumamente importante pues inhibe el desarrollo de microorganismos indeseables (principalmente bac-

terias patógenas), al aumentar la acidez del sustrato y disminuir su pH. Además incrementa el valor nutricional de la bebida, ya que es utilizado por el organismo humano en la síntesis de nueva glucosa o gluconeogénesis (Kandler y Stetter, 1977; Lehninger, 1985), y le confiere a la misma algunas de sus características distintivas, como el sabor refrescante y ligeramente ácido, que también presentan algunas cervezas africanas (van der Walt, 1954; Schwarz, 1956; Novellie, 1968, 1977; Nkanga, 1981; Nout, 1981).

El ácido acético estuvo presente desde las primeras etapas del proceso, sólo que en bajas concentraciones. Conforme avanzó la fermentación se fue acumulando en el sustrato y alcanzó su concentración máxima (0.109%) en la etapa final de la fermentación (50 horas), debido probablemente al incremento de las poblaciones de bacterias heterolácticas y de la levadura *B. intermedius*, que producen dicho compuesto. Estos microorganismos también han sido encontrados en las fases finales de fermentación y maduración de algunas cervezas africanas (*kaffir*, *burukutu*, *pito*, *oyokpo* y *busaa*), que presentan una concentración variable de ácido acético, pero no mayor de 0.5%, con la que la cerveza se considera inaceptable por su fuerte sabor a vinagre (van der Walt, 1956; Ekundayo, 1969; Faparusi *et al.*, 1973; Nout, 1980a; Nkanga, 1981). El ácido acético confiere a la cerveza un sabor picante y, además, al igual que el ácido láctico, actúa como conservador.

Si se analizan los cambios químicos del sustrato, se puede afirmar que el tipo de fermentación que se lleva a cabo en el tesgüino tarahumara es una fermentación láctica-alcohólica, seguida de una alcohólica-acética, muy semejante a la que se presenta en

las cervezas africanas *kaffir*, *oyokpo* y *busaa* (van der Walt, 1954, Nout, 1980a, Nkanga, 1981).

Con respecto al metanol, es importante mencionar que siempre se mantuvo en concentraciones bajas (0.009 - 0.025%), por lo que no representó riesgo alguno para los consumidores del tesgüino.

Un balance general de los resultados de los análisis bromatológicos y químicos, permite afirmar que las propiedades nutritivas del tesgüino son superiores a las de las materias primas utilizadas en su elaboración, es decir que el balance total arroja un incremento de proteína, etanol y ácido láctico (estos dos últimos constituyen fuentes inmediatas de calorías para los consumidores), lo que indica que la cerveza es un complemento importante de la dieta de los grupos étnicos que habitualmente la preparan y consumen.

CUADRO 8. TEMPERATURA (°C) Y HUMEDAD RELATIVA AMBIENTALES DURANTE LA ELABORACIÓN Y FERMENTACIÓN DEL TEGÜINO

Día	Fase del proceso	Temperatura			Humedad relativa	
		mínima	máxima	promedio	mínima	máxima
Oct. 27	Remojo del maíz	19.0	28.5	23.5	18	35
28	"	19.2	29.2	24.2	24	38
29	Germinación del maíz	19.2	29.4	24.2	27	41
30	"	19.0	30.6	24.8	21	42
31	"	21.0	30.9	25.9	18	37
Nov. 1	"	15.5	30.3	22.9	22	35
2	"	15.0	30.5	22.8	23	40
3	Molienda y cocción de la malta; enfriamiento del atole	3.5	24.0	— ^a	17	48
4	Colado del atole y fermentación	3.0	28.1	— ^a	22	52
5	Fermentación	17.5	28.3	22.9	19	54
6	"	17.0	27.5	22.3	22	50

^a No se calculó el promedio debido a que los valores de temperatura máxima y mínima no correspondieron al mismo ambiente. Todas las fases de elaboración y fermentación se realizaron en el interior de una habitación, con excepción de la cocción de la malta, el enfriamiento y el colado del atole, que se efectuaron a la intemperie.

CUADRO 9. TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA (H.R.) AMBIENTALES, Y TEMPERATURA DEL SUSTRATO AL MOMENTO DE TOMAR LAS MUESTRAS DE LAS DIVERSAS FASES DE ELABORACIÓN Y FERMENTACIÓN DEL TEGÜINO

Día	Hora	Fase del proceso ^a	Temp. y H.R. ambientales		Temp. del sustrato
			°C	%	°C
Oct. 27	19:00	Remojo del maíz	16.0	38	21.7
	28	"	15.5	38	21.1
	19:00	"	16.7	36	17.8
	29	Remojo y germinación del maíz	20.0	38	18.9
	19:00	"	29.4	27	22.2
	30	Germinación del maíz	20.0	26	19.0
	19:00	"	28.5	28	22.0
	31	"	20.3	29	19.0
	19:00	"	28.3	28	22.0
Nov. 1	8:00	"	20.7	26	19.6
	19:00	"	25.0	32	22.0
	2	"	16.2	38	18.0
	19:00	"	23.3	34	21.1
	3	Molienda del maíz y cocción de la malta	15.6	38	21.1
	11:00	"	17.0	36	— ^b

CUADRO 9 (continuación)

4	10:30	Enfriamiento y colado del atole	17.2	37	30.0
	12:00	Mezcla del atole con la liga	20.0	32	21.7
	19:00	Fermentación del atole	16.7	38	20.5
5	7:00	Tesgüino de 20 horas de fermentación	19.5	50	17.8
	11:30	Mezcla del tesgüino con atole nuevo	21.0	38	18.9
	16:30	Tesgüino de 30 horas de fermentación	22.7	30	20.0
	22:30	Tesgüino de 36 horas de fermentación	20.5	33	19.4
6	12:00	Tesgüino de 50 horas de fermentación	21.5	33	20.6

^a Todas las fases de elaboración y fermentación del tesgüino se realizaron en el interior de una habitación, excepto la cocción de la malta y el enfriamiento y colado del atole, que se efectuaron a la intemperie.

^b No determinada.

CUADRO 10. PORCENTAJE DE GRANOS DE MAÍZ ^a, UTILIZADOS EN LA ELABORACIÓN DE TEGÜINO, INVADIDOS POR HONGOS

Especies de hongos	Maíz desinfectado		Maíz no desinfectado	
	MSA	JV ₈ A	MSA	JV ₈ A
<i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>	8	64	14	86
<i>Eurotium rubrum</i>	36	0	32	0
<i>Phoma pomorum</i>	6	0	0	0
<i>Penicillium chrysogenum</i>	4	0	2	0
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	2	0	0	0
<i>Penicillium waksmanii</i>	2	0	0	0
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	0	0	56	28
<i>Rhizopus arrhizus</i>	0	0	6	48
<i>Penicillium echinulatum</i>	0	0	18	0
<i>Aspergillus niger</i>	0	0	8	0
<i>Eurotium chevalieri</i>	0	0	4	0

^a Contenido de humedad 14.02%

CUADRO 11. PORCENTAJE DE GRANOS DE MAÍZ REMOJADOS ^a, Y GERMINADOS ^a, UTILIZADOS EN LA ELABORACIÓN DEL TEGÜINO, INVADIDOS POR HONGOS

Especies de hongos	Tratamientos			
	Remojados ^b		Germinados ^c	
	Desinfectados	No desinfectados	Desinfectados	No desinfectados
<i>Eurotium rubrum</i>	20	8	16	22
<i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>	54	40	56	38
<i>Rhizopus arrhizus</i>	2	60	14	56

^a Los granos se sembraron en placas de JV₈A

^b Contenido de humedad 38.8%

^c Contenido de humedad 43.1%

CUADRO 12. PORCENTAJE DE GRANOS DE *Bromus arizonicus* (LIGA)^a, UTILIZADOS COMO CATALIZADOR EN LA ELABORACIÓN DEL TEGÜINO, INVADIDOS POR HONGOS

Especies de hongos	Granos desinfectados		Granos no desinfectados	
	MSA	JV ₈ A	MSA	JV ₈ A
<i>Phoma glomerata</i>	2	0	8	8
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	0	0	26	10
<i>Epicoccum purpurascens</i>	0	0	10	18
<i>Cladosporium colocasiae</i>	0	0	8	18
<i>Aspergillus niger</i>	0	0	12	0
<i>Candida guilliermondii</i>	0	0	0	12
<i>Eurotium repens</i>	0	0	12	0
<i>Penicillium chrysogenum</i>	0	0	0	12
<i>Penicillium minioluteum</i>	0	0	12	0
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	0	0	2	10
<i>Eurotium rubrum</i>	0	0	10	0
<i>Rhizopus nigricans</i>	0	0	0	6
<i>Alternaria alternata</i>	0	0	0	2
<i>Aspergillus flavus</i>	0	0	2	0

^a Contenido de humedad 13.96%

CUADRO 13. MICROBIOTA PRESENTE EN EL SEDIMENTO DE LA OLLA TEGÜINERA

Especies de hongos	Número de colonias / g	Número de colonias (log 10) / g
Levaduras		
<i>Brettanomyces intermedius</i>	9×10^2	3.0
<i>Rhodotorula rubra</i>	8×10^3	3.9
<i>Hansenula anomala</i>	5×10^3	3.7
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5.1×10^3	5.7
Mohos		
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	3×10^4	4.5
<i>Penicillium roquefortii</i>	1.4×10^5	5.2

CUADRO 14. MICOBIOTA DEL TEGÜINO EN SUS DIFERENTES FASES DE ELABORACIÓN Y FERMENTACIÓN

Etapa del proceso	Especies de hongos	Número de colonias /g o /ml	Número de colonias (log 10)/g o /ml
Malta	Mohos		
	<i>Fusarium moniliforme</i> var. <i>subglutinans</i>	5×10^5	5.5
Atole cocido y colado 1	Mohos		
	<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	2.5×10^3	3.4
	Levaduras		
	<i>Candida lusitaniae</i>	3.4×10^4	4.5
	<i>Candida pulcherrima</i>	1.6×10^4	4.2
	<i>Candida valida</i>	2.4×10^4	4.4
Liga	Mohos		
	<i>Aspergillus versicolor</i>	2.4×10^4	4.3
	Levaduras		
	<i>Candida valida</i>	5×10^4	5.7
Atole cocido y co- lado 1 + liga	Levaduras		
	<i>Brettanomyces intermedius</i>	2×10^4	4.3
	<i>Cryptococcus albidus</i> var. <i>albidus</i>	3.8×10^4	4.6

CUADRO 14. (continuación)

	<i>Candida guilliermondii</i>	1.3×10^4	4.1
	<i>Hansenula anomala</i>	7.4×10^4	4.9
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1.3×10^4	4.1
Tesgüino de 20 horas de fermentación	Levaduras		
	<i>Cryptococcus albidus</i> var. <i>albidus</i>	2.5×10^6	6.4
	<i>Candida guilliermondii</i>	5.8×10^7	7.8
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5×10^8	8.7
	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	4×10^7	7.6
Atole cocido y colado 2	Levaduras		
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3×10^5	5.5
Tesgüino de 24 horas de fermentación	Levaduras		
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5×10^9	9.7
	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	3.3×10^8	8.5
Tesgüino de 30 horas de fermentación	Levaduras		
	<i>Candida guilliermondii</i>	1.2×10^9	9.1
	<i>Hansenula anomala</i>	2.2×10^9	9.3
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2.3×10^9	9.4
	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	2.5×10^7	7.4

CUADRO 14. (continuación)

Tegüino de 36 horas de fermentación	Levaduras		
	<i>Candida guilliermondii</i>	3.4×10^9	9.5
	<i>Hansenula anomala</i>	2.6×10^{10}	10.4
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	4.4×10^{11}	11.6
	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	1.3×10^{10}	10.1
Tegüino de 50 horas de fermentación	Levaduras		
	<i>Candida guilliermondii</i>	2×10^{10}	10.3
	<i>Hansenula anomala</i>	8×10^9	9.9
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	8.9×10^{11}	11.99
	<i>Saccharomyces kluyveri</i>	3×10^8	8.5

CUADRO 15. NÚMERO TOTAL DE COLONIAS DE BACTERIAS Y LEVADURAS CUANTIFICADAS EN LAS DISTINTAS ETAPAS DE ELABORACIÓN Y FERMENTACIÓN DEL TEGÜINO

Etapas del proceso	Bacterias		Levaduras	
	Número de colonias /g o /ml	Número de colonias (log 10)/g o /ml	Número de colonias /g o /ml	Numero de colonias (log 10)/g o /ml
Malta	7.3×10^7	7.86	0	0
Atole cocido y colado 1	5.6×10^4	4.75	7.4×10^4	4.87
Liga	2.3×10^6	6.36	5.0×10^4	4.70
Atole cocido y colado 1 + liga	8.7×10^6	6.94	1.58×10^5	5.20
Tegüino de 20 horas de fermentación	3.2×10^9	9.51	6.01×10^8	8.78
Atole cocido y colado 2	4.0×10^6	6.60	3.0×10^5	5.48
Tegüino de 24 horas de fermentación	2.9×10^{10}	10.46	5.33×10^9	9.73
Tegüino de 30 horas de fermentación	4.0×10^9	9.60	5.73×10^9	9.75
Tegüino de 36 horas de fermentación	2.83×10^{12}	12.45	4.82×10^{11}	11.68
Tegüino de 50 horas de fermentación	7.0×10^{11}	11.85	9.18×10^{11}	11.96

CUADRO 16. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LAS ESPECIES DE LEVADURAS DEL TEGÜINO ESTUDIADAS

	<i>Brettanomyces intermedius</i>	<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Candida lusitanae</i>
A. Macromorfología o características de los cultivos			
1. Crecimiento en medio líquido (GELP) ^a	Sedimento flocoso abundante	Sedimento abundante y anillo ascendente	Sedimento abundante y anillo delgado
2. Crecimiento en medio sólido (GELPA o GELCA)	Colonia de aprox. 3.3 cm de diámetro a los 30 días, elevada, color crema-amarillento, butirosa, brillante, con borde ondulado y olor ácido característico (Fig. 136)	Colonia de aprox. 4 cm de diámetro a los 30 días, plana, con sectores brillantes de color blanco y otros opacos de color crema, butirosa y con borde continuo (Fig. 128)	Colonia de aprox. 1.7 cm de diámetro a los 30 días, plana, blanca, lisa, algo brillante, de consistencia butirosa y borde continuo (Fig. 104).
B. Micromorfología			
1. Características de las células vegetativas			
a) Morfología en medio sólido (AML, GELPA, JV _g A)	Células ovaladas, elipsoidales, cilíndricas a elongadas, de 3.5-7 x 6-14 μ m (Fig. 137)	Células subglobosas, ovaladas a elongadas, de 2-4.5 x 2-12 μ m (Fig. 129)	Células subglobosas a ovaladas, de 2-4 x 2.5-9 μ m (Fig. 105)
b) Formación de pseudomicelio y micelio verdadero en placa de Dalmu (HMA)	Seudomicelio bien desarrollado, sobre todo en anaerobiosis (Fig. 138)	Seudomicelio bien desarrollado (Fig. 130)	Seudomicelio bien desarrollado (Fig. 106)
2. Características de la reproducción asexual o vegetativa (AML, GELPA, JV _g A)	Gemación multilateral	Gemación multilateral (Fig. 129)	Gemación multilateral (Fig. 105)
3. Características de la reproducción asexual (AML, FWA, GELPA, GKA, JV _g A)	Ausente	Ausente	Ausente
a) Proceso de formación del asca			
b) Medios de esporulación			
c) Características de ascas y ascosporas			

	<i>Candida puloherrima</i>	<i>Candida valida</i>	<i>Cryptococcus albidus</i>
A. Macromorfología o características de los cultivos			
1. Crecimiento en medio líquido (GELP)	Sedimento abundante y anillo delgado	Sedimento abundante, película opaca, plegada, y anillo ascendente	Sedimento abundante y anillo delgado
2. Crecimiento en medio sólido (GELPA)	Colonia de aprox. 1.5 cm de diámetro a los 25 días, elevada, blanca, lisa, cremosa y con borde ligeramente lobado (Fig. 107)	Colonia de aprox. 5.2 cm de diámetro a los 30 días, umbonada, blanca-amarillenta, opaca, butirosa y plegada, con borde fimbriado y aroma afrutado (Fig. 109)	Colonia de aprox. 2.0 cm de diámetro a los 30 días, umbonada, color amarillo-rosado, brillante, suave y mucoso, con borde irregular (Fig. 117)
B. Micromorfología			
1. Características de las células vegetativas			
a) Morfología en medio sólido (AML, GELPA, JVB ₈ A)	Células globosas, subglobosas u ovaladas, de 2.5-5 x 4-7 μ m (Fig. 108)	Células subglobosas, ovaladas a elongadas, de 2-4 x 3-12 μ m (Fig. 110)	Células globosas a ovaladas, de 3-6 x 3.5-6.4 μ m (Fig. 118)
b) Formación de pseudomicelio y micelio verdadero en placa de Dalmau (HMA)	Seudomicelio ausente o rudimentario	Seudomicelio bien desarrollado, sobre todo en anaerobiosis (Fig. 110 y 111)	Ausente
2. Características de la reproducción asexual o vegetativa	Gemación multilateral	Gemación multilateral	Gemación multilateral
3. Características de la reproducción sexual (AML, FWA, GELPA, GKA, JVB ₈ A)	Ausente	Ausente	Ausente
a) Proceso de formación del asca			
b) Medios de esporulación			
c) Características de ascas y ascosporas			

Hansenula anomala

Rhodotorula rubra

A. Macromorfología o características de los cultivos

1. Crecimiento en medio líquido (GELP)
2. Crecimiento en medio sólido (GELPA)

Sedimento abundante y película arrugada

Sedimento moderado y anillo de color salmón

Colonia de aprox. 3.9 cm de diámetro a los 30 días, plana, de color blanco-crema, opaca, lisa, pero con algunos sectores granuloso, butirosa y con borde continuo (Fig. 112)

Colonia de aprox. 2.1 cm de diámetro a los 30 días, umbonada, de color salmón, brillante, lisa, mucosa y con borde entero (Fig. 139)

B. Micromorfología

1. Características de las células vegetativas

- a) Morfología en medio sólido (AML, GELPA, JV₈A)
- b) Formación de pseudomicelio y micelio verdadero en placa de Dalmau (HMA)

Células globosas, ovaladas a elongadas, de 1.9-4 x 2.6-6 μ m (Fig. 113)

Células globosas a ovaladas, de 2-5.5 x 1.5-4 μ m (Fig. 140)

Seudomicelio bien desarrollado, sobre todo en anaerobiosis (Fig. 114)

Ausente

2. Características de la reproducción asexual o vegetativa (AML, GELPA, JV₈A)

Gemación multilateral (Fig. 113)

Gemación multilateral

3. Características de la reproducción sexual (AML, FWA, GELPA, GKA, JV₈A)

Ausente

- a) Proceso de formación del asca
- b) Medios de esporulación
- c) Características de ascas y ascosporas

Directamente de las células vegetativas
FWA, GELPA, JV₈A

Situación del asca
Forma y medidas del asca

Libre y dehiscente
Globosa a elipsoidal, de 5.6-6.4 x 4.8-5.6 μ m (Figs. 115 y 116)

Forma y medida de las ascosporas

De sombrero, de 2.1-2.4 x 2.4-4.0 μ m (Figs. 115 y 116)

Número de ascosporas por asca

2, 3 o 4

Saccharomyces cerevisiae

Saccharomyces kluyveri

A. Macromorfología o características de los cultivos

1. Crecimiento en medio líquido (GELP)
2. Crecimiento en medio sólido (GELPA)

Sedimento abundante

Sedimento y anillo

Colonias con dimensiones y características muy variables: butirosas, de color crema a crema-pardo, algo elevadas y lisas, o elevadas plegadas y sectorizadas, brillantes u opacas (Figs. 120-122)

Colonia de aprox. 4.8 cm de diámetro a los 30 días, levantada en el centro, y color crema-pardo, el resto plana, con sectores brillantes y opacos, butirosa y con borde continuo (Fig. 131)

B. Micromorfología

1. Características de las células vegetativas

a) Morfología en medio sólido (AML, GELPA, JV₈A)

Células subglobosas y elipsoidales a cilíndricas, de 5-10 x 5-12 μ m (Figs. 123 y 124)

Células globosas, subglobosas o elipsoidales, de 4-7 x 4.5-10.5 μ m (Fig. 133)

b) Formación de pseudomicelio y micelio verdadero en placa de Dalmat (HMA)

Seudomicelio bien desarrollado (Fig. 125)

Seudomicelio bien desarrollado (Fig. 132)

2. Características de la reproducción asexual o vegetativa (AML, GELPA, JV₈A)

Gemación multilateral (Figs. 123 y 124)

Gemación multilateral

3. Características de la reproducción sexual (AML, FWA, GELPA, GKA, JV₈A)

a) Proceso de formación del asca

Directamente de las células vegetativas

Directamente de las células vegetativas

b) Medios de esporulación

FWA, GELPA, GKA, JV₈A

FWA

c) Características de ascas y ascosporas

Situación del asca

Libre y persistente

Libre y persistente

Forma y medidas del asca

Globosa, elipsoidal o elongada, de 5.6-12 x 4-8 μ m (Figs. 126 y 127)

Globosas a elipsoidales de 5.6-9.6 x 4-6.4 μ m (Fig. 134)

Forma y medida de las ascosporas

Esféricas, de 1.9-4 μ m (Figs. 126 y 127)

Esféricas, de 1.9-3.2 μ m (Fig. 134)

Número de ascosporas por asca

2, 3 o 4

2, 3 o 4

^a AML agar para morfología de levaduras FWA Fowell agar GELCA glucosa-extracto de levadura-CaCO₃-agar HMA harina de maíz-agar GELP glucosa-extracto de levadura-peptona GELPA glucosa-extracto de levadura-peptona-agar JV₈A jugo de 8 verduras-agar

CUADRO 17. CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS DE LAS LEVADURAS DEL TEGÚINO ESTUDIADAS

	<i>Brettanomyces intermedius</i>	<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Candida lusitanae</i>	<i>Candida pulcherrima</i>	<i>Candida valida</i>
1. Utilización de compuestos de carbono					
a) Fermentación					
D-glucosa	+	+	+	+	+ d
Galactosa	+	+	+ d	-	-
Maltosa	+	-	-	-	-
α-metil-D-glucósido	-	-	-	-	-
Sacarosa	+	+	+	-	-
Trehalosa	+	+	+ d	-	-
Melibiosa	-	-	-	-	-
Lactosa	-	-	-	-	-
Celobiosa	+	-	+	-	-
Melecitosa	+	-	-	-	-
Rafinosa	+ d	+	-	-	-
b) Asimilación					
D-galactosa	+	+	+	+	-
L-sorbosa	-	+	+	+	-
D-ribosa	-	+	+	+	-
D-xilosa	-	+	+	+	+
L-arabinosa	-	+	-	-	-
D-arabinosa	-	+ d	-	-	-
L-ramnosa	-	+	+	-	-
Sacarosa	+	+	+	+	-
Maltosa	+	+	+	+	-
Trehalosa	+	+	+	+	-
α-metil-D-glucósido	+	+	+	+	-
Celobiosa	+	+	+	+	-
Salicina	+	+	+	+	-
Arbutina	+	+	+	+	-
Melibiosa	-	+	-	-	-
Lactosa	-	-	-	-	-
Rafinosa	+	+	-	-	-
Melecitosa	+	+	+	+	-
Inulina	-	+	-	-	-
Almidón soluble	-	-	-	-	-
Glicerol	+ d	+	+	+	+
Eritritol	-	-	-	-	-
Ribitol	-	+	+	+	-
Galactitol	-	-	-	-	-
D-manitol	-	+	+	+	-
D-glucitol	+	+	+	+	-
Mio-inositol	-	-	-	-	-
Gluconolactona	-	+	+	+	+
Ácido DL-láctico	+	+	+	-	+
Ácido succínico	-	+	+	+	+
Ácido cítrico	-	+	+	+	-
Metanol	-	-	-	-	-
Etanol	+	+	+	+	+
D-glucosamina	-	+	-	-	-
c) Desdoblamiento de arbutina					
	+	+	-	+	-

CUADRO 17 (continuación)

	<i>Brettanomyces intermedius</i>	<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Candida lusitanae</i>	<i>Candida pulcherrima</i>	<i>Candida valida</i>
2. Utilización de compuestos de nitrógeno					
a) Asimilación de KNO ₃	-	-	-	-	-
b) Asimilación de NaNO ₃	-	-	-	-	-
3. Requerimientos de vitaminas para el crecimiento					
a) Crecimiento en medio libre de vitaminas	-	-	+	-	+
b) Vitaminas que promueven el crecimiento	a	Biotina, tiamina y piridoxina	-	Biotina	-
4. Resistencia al antibiótico cicloheximida					
a) 0.01%	+	-	-	-	-
b) 0.1%	-	-	-	-	-
5. Crecimiento en medios de alta presión osmótica					
a) Tolerancia a 50% de glucosa	-	+	+	+	-
b) Tolerancia a 60% de glucosa	-	-	-	-	-
c) Tolerancia a concentraciones de 1-18% de NaCl	4-5	12-13	12-13	12-13	2-3
6. Producción extracelular de compuestos amiloides	-	-	-	-	-
7. Crecimiento a 37°C	+	+	+	+ d	+

a No determinada

d Débil

CUADRO 18. CARACTERÍSTICAS FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS DE LAS LEVADURAS DEL TEGÜINO ESTUDIADAS

	<i>Cryptococcus albidus</i>	<i>Hansenula anomala</i>	<i>Rhodotorula rubra</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces kluyveri</i>
1. Utilización de compuestos de carbono					
a) Fermentación					
D-glucosa	-	+	-	+	+
Galactosa	-	+ d	-	+	+
Maltosa	-	+ d	-	+	+
α-metil-D-glucósido	-	-	-	-	-
Sacarosa	-	+	-	+	+
Trehalosa	-	-	-	-	-
Melibiosa	-	-	-	-	+
Lactosa	-	-	-	-	-
Celobiosa	-	-	-	-	-
Melecitosa	-	-	-	-	-
Rafinosa	-	+ d	-	+	+
b) Asimilación					
D-galactosa	+	+	+	+	+
L-sorbosa	-	-	+	-	+
D-ribosa	+	+	+	-	-
D-xilosa	+	+	+	-	+
L-arabinosa	+	-	+	-	-
D-arabinosa	+ d	-	+	-	-
L-ramnosa	+	-	-	-	-
Sacarosa	+	+	+	+	+
Maltosa	+	+	+	+	+
α-metil-D-glucósido	-	+	-	+	-
Celobiosa	+	+	-	+	-
Salicina	+	+	+	-	-
Melibiosa	+ l	-	-	-	+
Lactosa	+	-	-	-	-
Rafinosa	+	+	+	+	+
Melecitosa	+	+	+	-	+
Inulina	-	-	-	-	-
Almidón soluble	+ d	+	-	+	-
Glicerol	-	+	+	-	+ d
Eritritol	-	+	-	-	-
Ribitol	-	-	+	-	-
Galactitol	-	-	-	-	-
D-manitol	-	+	+	-	-
D-glucitol	-	+	+	-	+
Mio-inositol	+	-	-	-	-
Gluconolactona	+	+	+	-	+
Ácido DL-láctico	-	+	+	+	+
Ácido succínico	+	+	+	-	+
Ácido cítrico	+	+	-	-	-
Metanol	-	-	-	-	-
Etanol	+	+	+	+	+
D-glucosamina	-	-	+	-	-
c) Desdoblamiento de arbutina					
	+	+	-	-	-

CUADRO 18 (continuación)

	<i>Cryptococcus albicus</i>	<i>Hansenula anomala</i>	<i>Rhodotorula rubra</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces kluyveri</i>
2. Utilización de compuestos de nitrógeno					
a) Asimilación de KNO ₃	+	+	-	-	-
b) Asimilación de NaNO ₃	+	+	-	-	-
c) Asimilación de L- <u>li</u> sina	a	a	a	-	+
3. Requerimientos de vitaminas para el crecimiento					
a) Crecimiento en medio libre de vitaminas	-	+	-	+	+
b) Vitaminas que promueven el crecimiento	Tiamina	-	Tiamina	-	-
4. Resistencia al antibiótico cicloheximida					
a) 0.01%	-	-	-	-	-
b) 0.1%	-	-	-	-	-
5. Crecimiento en medios de alta presión osmótica					
a) Tolerancia a 50% de glucosa	-	+	-	+	-
b) Tolerancia a 60% de glucosa	-	-	-	-	-
c) Tolerancia a concentraciones de 1-18% de NaCl	8-9	16-17	5-6	11-12	a
6. Producción extracelular de compuestos amiloides	+ d	-	a	-	-
7. Crecimiento a 37°C	+ d	-	+	+	+

a No determinada

d Débil

l Lenta

CUADRO 19. ANÁLISIS QUÍMICO PARCIAL (RESULTADOS EN BASE SECA) DEL MAÍZ Y DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS DE LAS DIVERSAS ETAPAS DE ELABORACIÓN Y FERMENTACIÓN DEL TEGÜINO

Muestra	Proteína ^a (N x 6.25)	Cenizas ^a	Grasa ^a
Maíz molido	9.43	1.5	6.14
Maíz germinado y molido 1	10.23	1.4	4.65
Atole cocido y colado 1	7.36	1.4	3.21
Liga molida	11.01	1.7	1.06
Atole cocido y colado 1+liga	7.45	1.5	1.13
Tesgüino de 20 horas de fermentación	9.25	1.42	2.48
Maíz germinado y molido 2	9.83	1.5	6.01
Atole cocido y colado 2	6.32	1.5	4.00
Tesgüino de 24 horas de fermentación	8.37	1.56	2.35
Tesgüino de 30 horas de fermentación	10.24	1.58	5.04
Tesgüino de 36 horas de fermentación	10.74	1.58	6.80
Tesgüino de 50 horas de fermentación	13.20	1.57	4.28

^a Todos los valores corresponden a porcentajes en relación a peso seco (g/100 g de muestra)

CUADRO 20. ANÁLISIS QUÍMICO PARCIAL (RESULTADOS EN BASE HÚMEDA) DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS DE LAS DIVERSAS FASES DE ELABORACIÓN Y FERMENTACIÓN DEL TEGÜINO

Muestra	Contenido de humedad (%) ^a	Sólidos totales ^a	Proteína (N x 6.25) ^a	Cenizas ^a	Grasa ^a	Niacina mg/100ml
Suspensión de maíz germinado y molido 1	83.8	16.2	1.66	0.23	0.75	0.76
Atole cocido y colado 1	81.0	19.0	1.40	0.27	0.61	0.43
Liga molida suspendida en agua	89.2	11.8	1.30	0.20	0.13	0.03
Atole cocido y colado 1 + liga	81.6	18.4	1.37	0.28	0.21	0.33
Tegüino de 20 horas de fermentación	87.8	12.2	1.13	0.17	0.30	0.13
Suspensión de maíz germinado y molido 2	87.2	12.8	1.26	0.19	0.77	0.18
Atole cocido y colado 2	80.8	19.2	1.21	0.29	0.77	0.33
Tegüino de 24 horas de fermentación	87.6	14.2	1.18	0.22	0.29	0.24
Tegüino de 30 horas de fermentación	89.2	10.8	1.11	0.17	0.54	0.37

CUADRO 20: (continuación)

Muestra	Contenido de humedad (%) ^a	Sólidos totales ^a	Proteína (N x 6.25) ^a	Cenizas ^a	Grasa ^a	Niacina mg/100ml
Tesgüino de 36 horas de fermentación	89.8	10.2	1.10	0.16	0.69	0.35
Tesgüino de 50 horas de fermentación	90.4	9.6	1.27	0.15	0.41	0.30

^a Todos los valores corresponden a porcentajes en relación a base húmeda (g/100 ml de muestra), y se calcularon a partir de los valores en base seca (Cuadro 15).

CUADRO 21. BALANCE DE PROTEÍNA/SÓLIDOS TOTALES Y PROTEÍNA/CENIZAS^a PARA LA DETERMINACIÓN DE LOS INCREMENTOS TOTAL Y NETO DE PROTEÍNA DURANTE LA FERMENTACIÓN DEL TEGÜINO (DE 24 A 50 HORAS DE FERMENTACIÓN)

Tesgüino de 24 - 50 horas	Proteína (N x 6.25)	Cenizas	Sólidos totales	<u>Proteína</u> <u>cenizas</u>	<u>Proteína</u> <u>Sólidos totales</u>
24	1.18	0.22	14.2	5.36	0.083
30	1.11	0.17	10.8	6.53	0.103
36	1.10	0.16	10.2	6.53	0.108
50	1.27	0.15	9.6	8.47	0.132

^a % Incremento neto de proteína = $\frac{(g \text{ proteína}/g \text{ ceniza}) \text{ final} - (g \text{ proteína}/g \text{ ceniza}) \text{ inicial}}{(g \text{ proteína}/g \text{ ceniza}) \text{ inicial}} \times 100$

% Incremento neto de proteína = $\frac{8.47 - 5.36}{5.36} \times 100 = 58.02$

CUADRO 22. ANÁLISIS QUÍMICO PARCIAL (RESULTADOS EN BASE HÚMEDA) DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS DE LAS DIVERSAS FASES DE ELABORACIÓN Y FERMENTACIÓN DEL TEGÜINO

Muestra	Ácido láctico (%)	Ácido acético (%)	Metanol (%)	Etanol (%)	pH
Suspensión de maíz germinado y molido 1	0.018	0.054	0.018	0.017	4.7
Atole cocido y colado 1	0.027	0.009	0.011	0.023	5.0
Liga molida suspendida en agua	0.017	0.018	0.025	0.030	5.5
Atole cocido y colado 1 + liga	0.028	0.011	0.020	0.024	4.7
Tesgüino de 20 horas de fermentación	0.323	0.036	0.021	0.920	3.7
Suspensión de maíz germinado y molido 2	0.023	0.019	0.019	0.045	4.5
Atole cocido y colado 2	0.028	0.012	0.014	0.024	5.0
Tesgüino de 24 horas de fermentación	0.284	0.067	0.009	0.836	3.5

CUADRO 22. (continuación)

Muestra	Ácido láctico (%)	Ácido acético (%)	Metanol (%)	Etanol (%)	pH
Tesgüino de 30 horas de fermentación	0.372	0.054	0.016	1.413	3.2
Tesgüino de 36 horas de fermentación	0.406	0.054	0.011	1.671	3.0
Tesgüino de 50 horas de fermentación	0.329	0.109	0.014	3.730	3.0

Figuras 37 - 47. Mohos aislados de los granos de maíz.

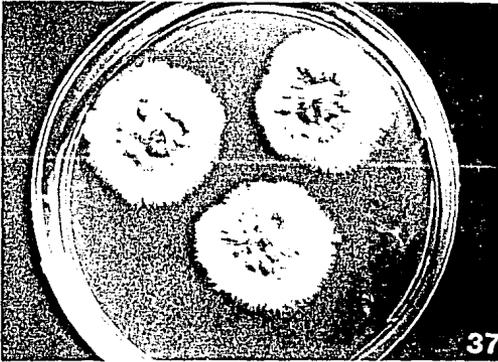
37 - 41. *Eurotium chevalieri* (estado sexual de *Aspergillus chevalieri*).

37. Colonias sobre placa de CzA, de crecimiento restringido, planas, de color azul gris en la zona de desarrollo de las cabezuelas y con abundantes cleistotecios en la periferia, lo que les confiere un color amarillento (el reverso es de color naranja), X 0.8. 38. Conidióforo típico con vesícula semiglobosa, que presenta una hilera compacta de fiálides y cadenas de conidios subglobosos de pared equinulada, X 360. 39. Cleistotecio globoso, de pared lisa y color amarillo brillante, con abundantes ascas en su interior, X 450. 40. Asca oblonga, hialina, de pared lisa, con 8 ascosporas, X 2 000. 41. Ascosporas bivalvas, de pared lisa, con surco ecuatorial delimitado por crestas delgadas y notorias, X 2 000.

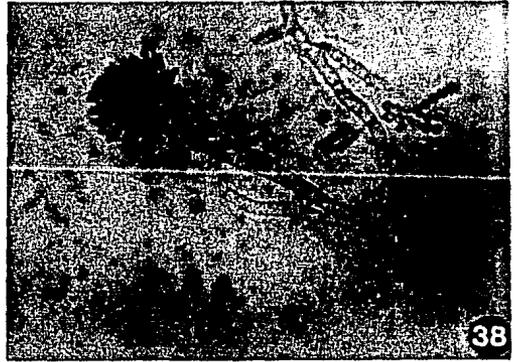
42 - 26. *Eurotium rubrum* (estado sexual de *Aspergillus ruber*).

42. Colonia sobre placa de CzA, plana, de color amarillo anaranjado, debido a la presencia de hifas rojas y abundantes cleistotecios de color amarillo brillante. Abundantes conidióforos de color verde olivo, lo que confiere a la colonia tintes verdosos (el reverso es de color marrón), X 0.8. 43. Conidióforo hialino, de pared lisa, con vesícula subglobosa que presenta una hilera compacta de fiálides ampuliformes, X 400. 44. Cleistotecio subsférico, de color amarillo, con pared lisa y rodeado de hifas, X 350. 45. Asca esférica, hialina, de pared lisa, con 8 ascosporas biconvexas en su interior, X 1 200. 46. Ascospora de pared lisa, con un surco ecuatorial notorio delimitado por crestas poco conspicuas, X 1 600.

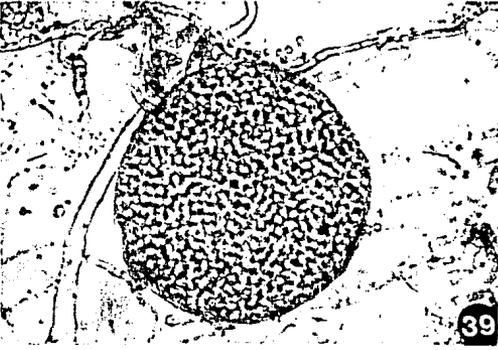
47. *Aspergillus niger*. Colonias sobre placa de CzA, de crecimiento restringido, con micelio basal denso y amarillento y abundantes cabezuelas de color pardo negruzco (el reverso es de color amarillo pálido), X 0.8.



37



38

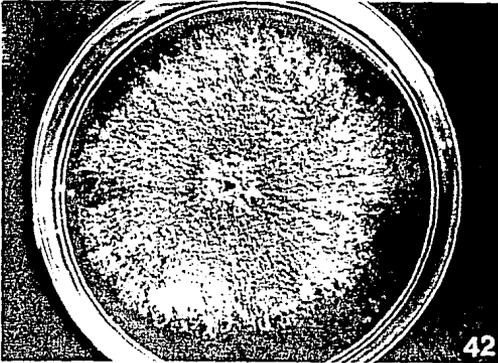


39



40

41



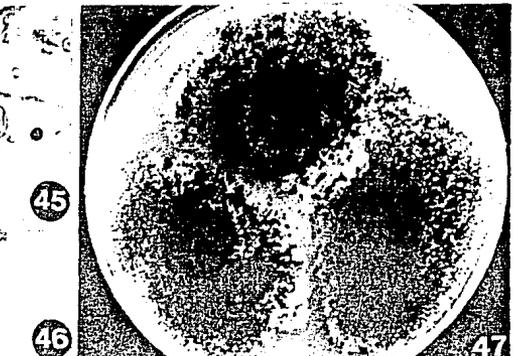
42



43



44



45

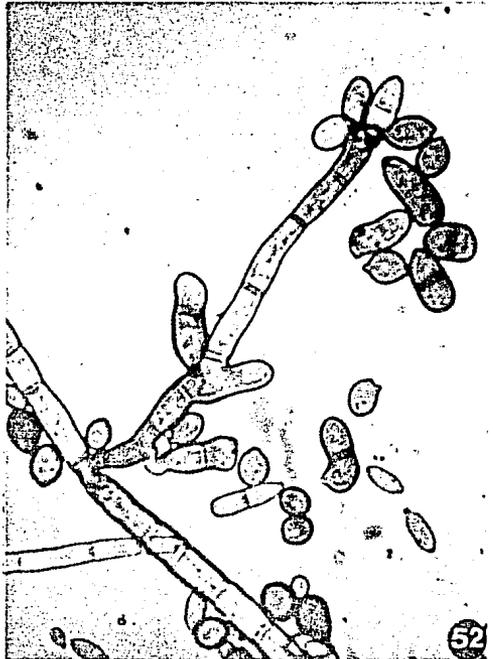
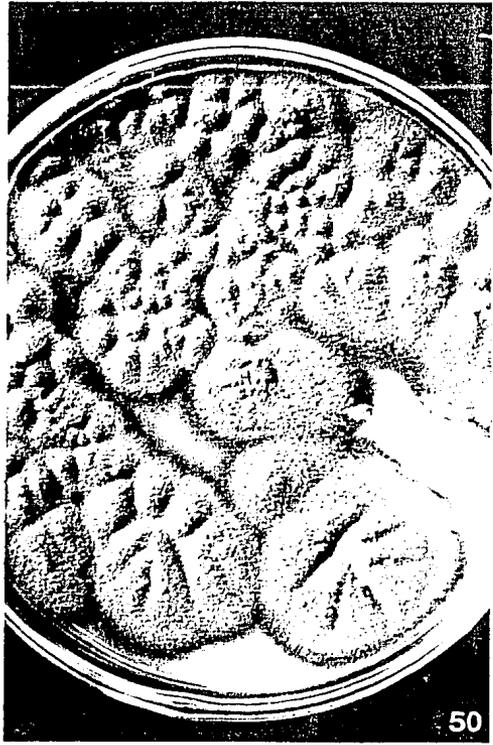
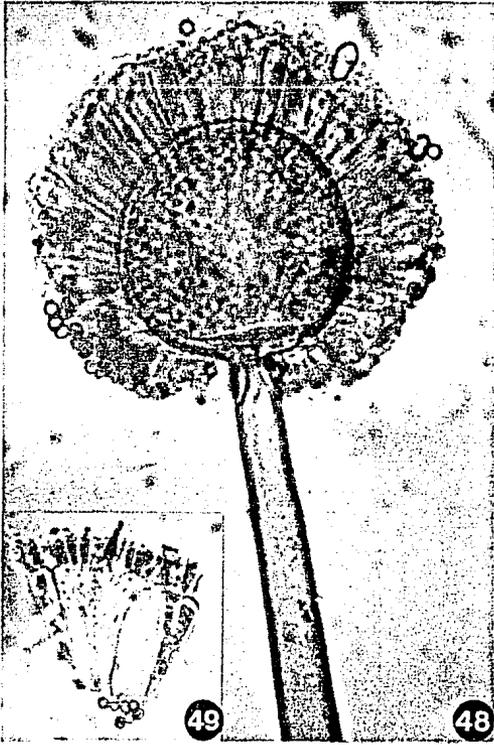
46

47

Figuras 48 - 52. Mohos aislados de los puros en un 1.

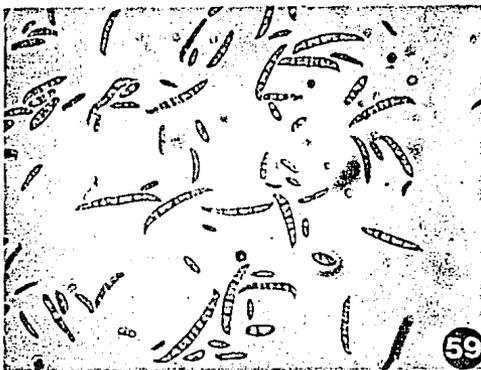
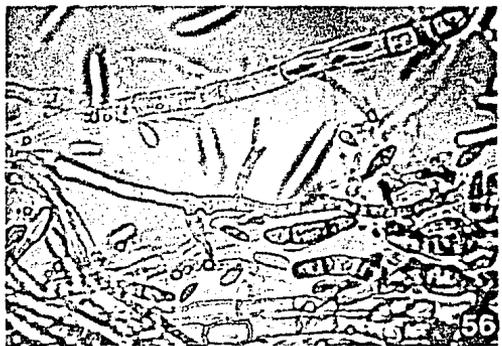
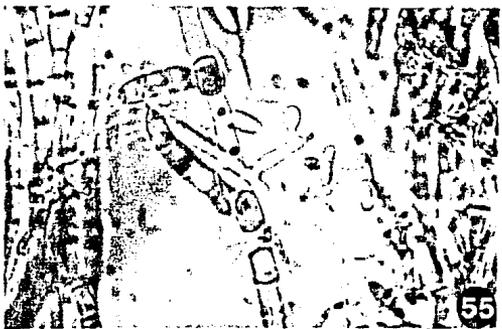
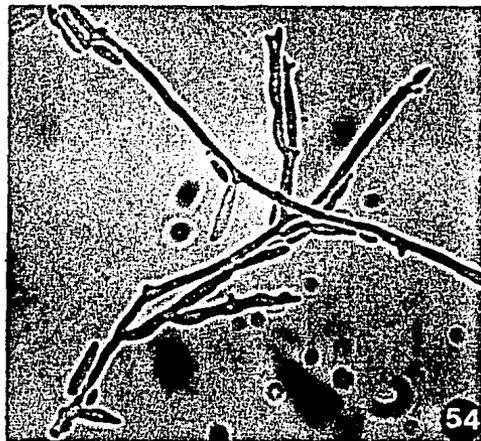
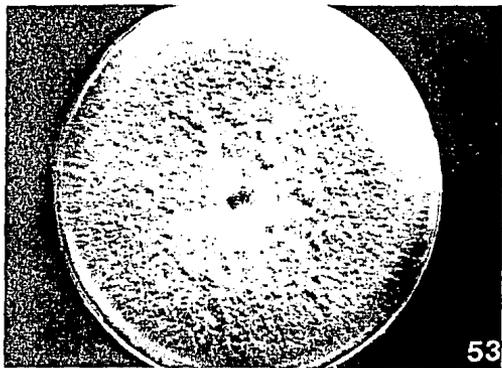
48 - 49. *Aspergillus niger*. 48. Conidióforo de pared lisa, con vesícula esférica de pared gruesa y con una hilera compacta de métulas alargadas, X 800. 49. Detalle de las hileras de métulas y fiálides correspondientes a la cabezuela biseriada. Conidios globosos, de color pardo oscuro y con pared ligeramente rugosa, X 1 200.

50 - 52. *Cladosporium cladosporioides*. 50. Colonia sobre placa de PDA, aterciopelada, de color verde olivo, algo plegada (el reverso es de color verde negruzco), X 1.25. 51. Conidióforos de color verde olivo y con pared lisa, con cadenas acrópetas de conidios limoniformes, aseptados, X 600. 52. Conidióforo magnificado, con ramoconidios terminales e intercalares: conidios limoniformes, elipsoidales u obovoides sueltos, y ramoconidios aseptados o con un septo, X 1 200.



Figuras 53 - 59. Mohos aislados de los granos de maíz : *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*.

53. Colonia sobre placa de PSA, extendida, con el micelio aéreo flooso, de color blanco rosáceo en la parte superior, y rojo vino en la base (el reverso es de color púrpura negruzco), X 0.72. 54. Fiálides simples y polifiálides que dan origen a microconidios, X 380. 55 - 56. Polifiálide con dos bocas; un microconidio está emergiendo de una de ellas, X 450. 57 - 59. Macro y microconidios típicos de la especie, X 450. Los macroconidios son falcados, de pared delgada, hialinos y con 3 - 5 septos, X 450. Los microconidios son aseptados, hialinos, ovalados a obclavados, X 680.

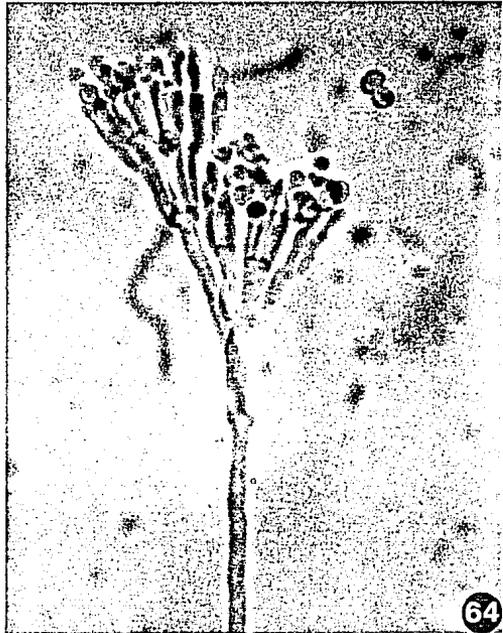
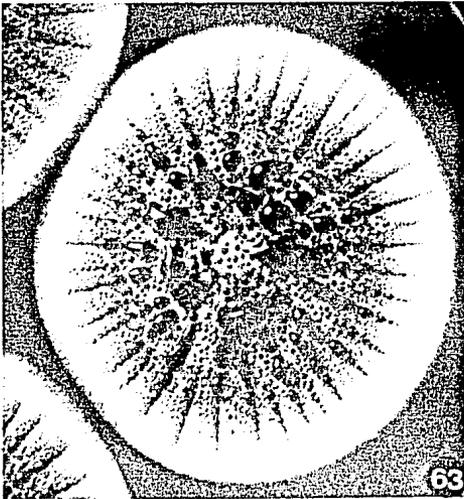
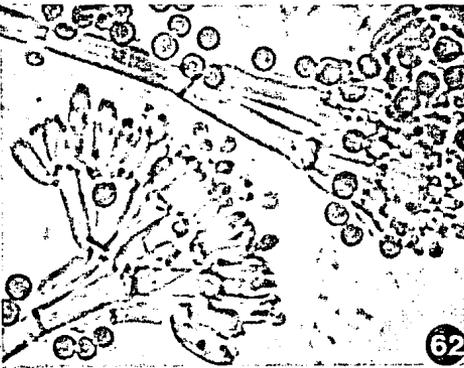
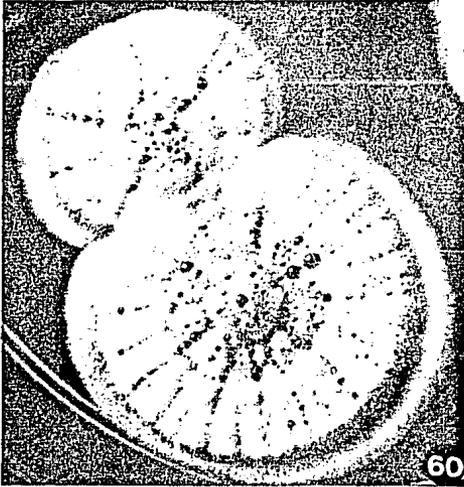


Figuras 60 - 64. Mohos aislados de los granos de maíz.

60 - 62. *Penicillium aurantiogriseum*, aislado de los granos de maíz, de la liga y del sedimento de la olla tesguinera. 60. Colonias sobre placa de CzELA, de crecimiento rápido, con surcos radiales y margen entero de color blanco; zonas submarginal y central de color gris turquesa debido a la conidiogénesis, micelio basal de color blanco y abundante exudado de color ámbar (el reverso es de color marrón púrpura), X 1.15.

61. Conidióforos ligeramente verrucosos, con penicilos biververticilados constituidos por verticilos de 3 - 4 mêtulas y de 5 - 8 fiálides ampuliformes, que originan cadenas basípetas de conidios subsféricos, X 550. 62. Penicilo triverticilado con verticilos de ramas, mêtulas y fiálides, X 1 000.

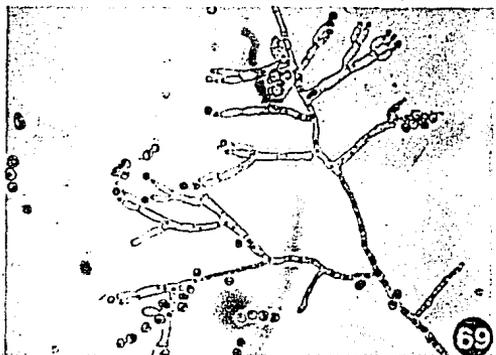
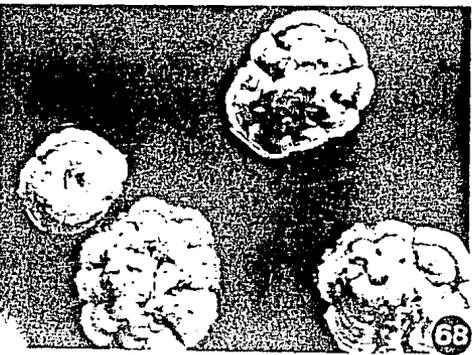
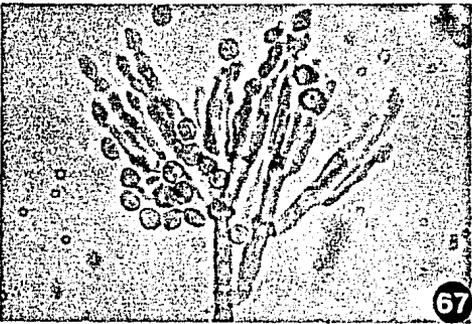
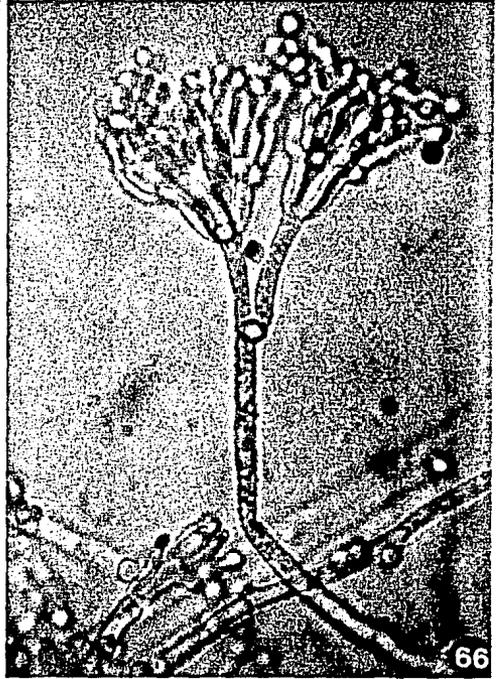
63 - 64. *Penicillium chrysogenum*, aislado de granos de maíz y de la liga. 63. Colonia sobre placa de CzELA, de color amarillo oro en el centro y blanco en la periferia, umbonada y surcada radialmente; abundante exudado de color amarillo brillante y pigmento soluble del mismo color, igual que el reverso de la colonia, X 1.15. 64. Conidióforo de pared lisa, con penicilos triverticilados característicos, constituidos por verticilos de 2 ramas, 3 - 5 mêtulas cortas y 4 - 7 fiálides ampuliformes (cada una de ellas se angosta para formar un cuello), que originan conidios subsféricos de pared lisa, X 980.



Figuras 65 - 69. Mohos aislados de maíz.

65 - 67. *Penicillium echinulatum*. 65. Colonia sobre placa de CzELA, bien desarrollada, con pliegues concéntricos y surcos radiales; zona central flocosa y zona periférica con abundantes fascículos, que le confieren una textura granulosa; de color verde azulado. Margen claro y profundo. Abundante exudado de color amarillo claro (el reverso es de color naranja a salmón), X 1.15. 66. Conidióforos de pared ligeramente rugosa, que porta penicilos triverticilados compactos, constituidos por rama, verticilo de 3 - 5 métulas y verticilo de 5 - 8 fiálides ampuliformes, X 1 000. 67. Penicilos triverticilados, con racimos terminales de fiálides ampuliformes (cada una de ellas se angosta gradualmente para formar un cuello distintivo), que originan cadenas basípetas de conidios esferoidales de pared rugosa, X 1 000.

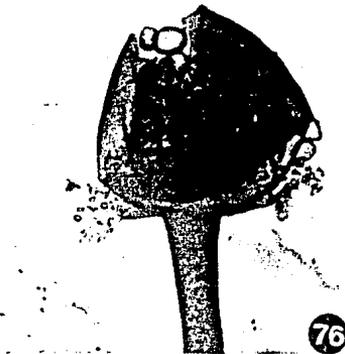
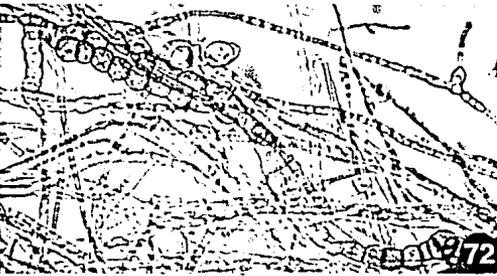
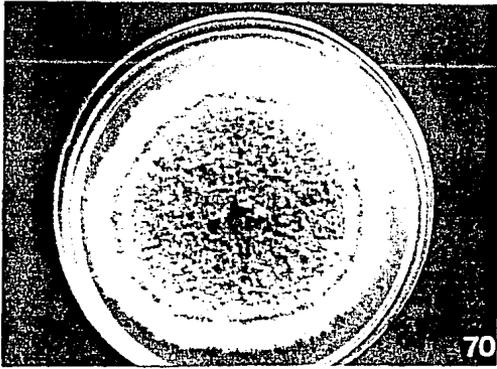
68 - 69. *Penicillium waksmanii*. 68. Colonias sobre placa de CzELA, restringidas, velutinosas, umbonadas y surcadas radialmente; micelio blanco, pero gris verdoso en las zonas de conidiogénesis, y con margen entero o fimbriado. Exudado de color claro (el reverso es amarillo verdoso), X 1.15. 69. Conidióforos de pared lisa, que terminan en penicilos irregulares, mono y biverticilados, con verticilos de métulas y fiálides, verticilos mixtos (con ambas estructuras al mismo nivel) o que terminan en fiálides solitarias. Fiálides ampuliformes que se angostan hacia la punta, y cadenas cortas de conidios esferoidales lisos o ligeramente rugosos, X 500.



Figuras 70 - 76. Mohos aislados de los granos de maíz.

70 - 73. *Phoma pomorum*. 70. Colonia sobre placa de PDA, de crecimiento rápido y color vino púrpura, con micelio aéreo abundante, blanco grisáceo, y con una zona periférica bien delimitada de producción de picnidios, X 0.72. 71. Picnidio subgloboso, de color negro parduzco, expulsando un cirro con conidios elipsoidales egutulados, X 120. 72. Clamidosporas unicelulares encadenadas, de color ámbar, X 500. 73. Clamidospora alternarioide solitaria, de color marrón, X 500.

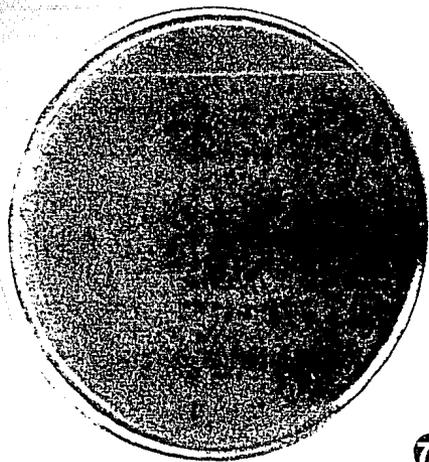
74 - 76. *Rhizopus arrhizus*. 74. Esporangióforo con rizoides bien desarrollados, de color ámbar, y esporangio subesférico, de color pardo negruzco, X 140. 75. Esporangióforos con rizoides no muy desarrollados y con columelas o esporangios colapsados. El del centro de la fotografía presenta un abultamiento típico de la especie, X 100. 76. Esporangio subesférico, de color pardo (se nota su peridio roto), con numerosas esporas ovales o de cantos angulados, de pared ligeramente estriada y de color claro, X 720.



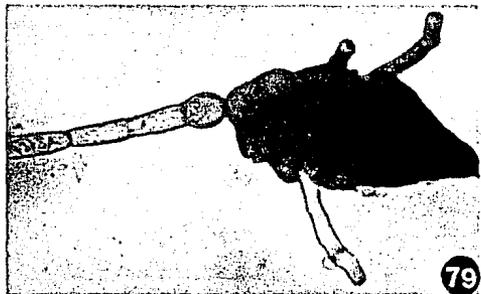
Figuras 77 - 82. Mohos aislados de las semillas de la liga.

77 - 76. *Alternaria alternata*. 77. Colonia sobre placa de PDA, extendida, aterciopelada y de color olivo oscuro, X 0.85. 78. Conidióforo simple, solitario, de color pardo dorado, con pared lisa y poro apical a través del cual emergen los poroconidios. Poroconidios obclavados, obpiriformes, ovoides o elipsoidales, con un rostro cónico o cilíndrico de pared lisa o rugosa, de color pardo dorado a pardo oscuro, y con septos longitudinales, transversales y oblicuos, X 610. 79. Conidio con varios tubos germinales, todavía unido al conidióforo, X 960.

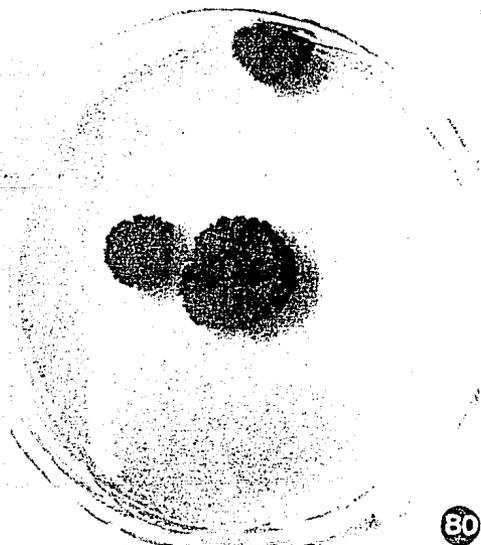
80 - 82. *Cladosporium colocasiae*. 80. Colonias sobre placa de PDA, de crecimiento restringido, efusas y aterciopeladas, de color verde olivo oscuro, X 1.0. 81. Hifas y conidióforos nodosos, de pared lisa y de color pardo claro. Conidios cilíndricos, oblongos o elipsoidales, con 1 - 3 septos y constreñidos a nivel de los septos, X 1 000. 82. Conidios limoniformes, obclavados o elipsoidales, aseptados o septados y constreñidos a nivel de los septos, X 1 000.



77



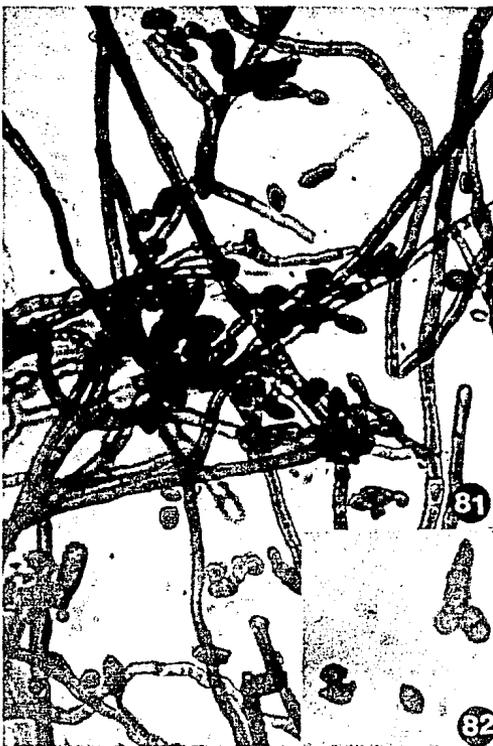
79



80



78



81

82

Figuras 83 - 89. Mohos aislados de las semillas de la liga.

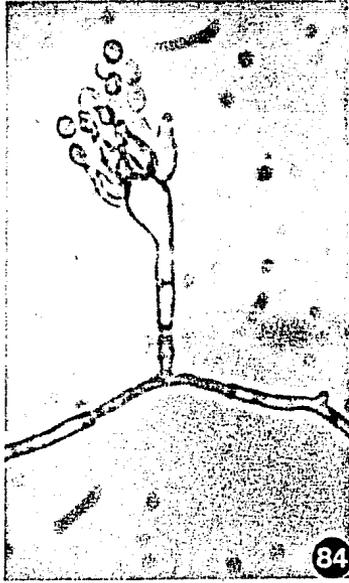
83 - 85. *Aspergillus flavus*. 83. Colonias sobre placa de CzA, de crecimiento rápido, planas, con micelio basal denso y abundantes cabezuelas que confieren a las colonias una coloración verde amarillenta brillante, X 1.25 . 84. Conidióforo joven, de pared lisa, con vesícula subglobosa uniseriada. Fiálides ampuliformes que originan conidios globosos o subglobosos, ligeramente equinulados, X 1100. 85. Conidióforo maduro, de pared gruesa y con cabezuela radial biseriada, X 950.

86 - 87. *Eurotium repens* (estado sexual de *Aspergillus repens*). 86. Conidióforo maduro, de pared gruesa y lisa, con vesícula subglobosa uniseriada que porta fiálides ampuliformes con cadenas de conidios espinosos, subglobosos a ovoides, de color verde azulado, X 1100. 87. Ascas globosas u ovaladas, con pared delgada y lisa, de color amarillo verdoso, cada una con 8 ascosporas lenticulares, de pared lisa, X 1400.

88 - 89. *Aspergillus versicolor*. 88. Colonias sobre placa de Jv₈A, planas, algo levantadas en el centro y con anillos concéntricos, de color verde esmeralda en la zona de conidiogénesis y blanco en el margen (el reverso es de color rojo vino), X 1.0 . 89. Conidióforo de pared lisa, con vesícula subglobosa biseriada, X 430.



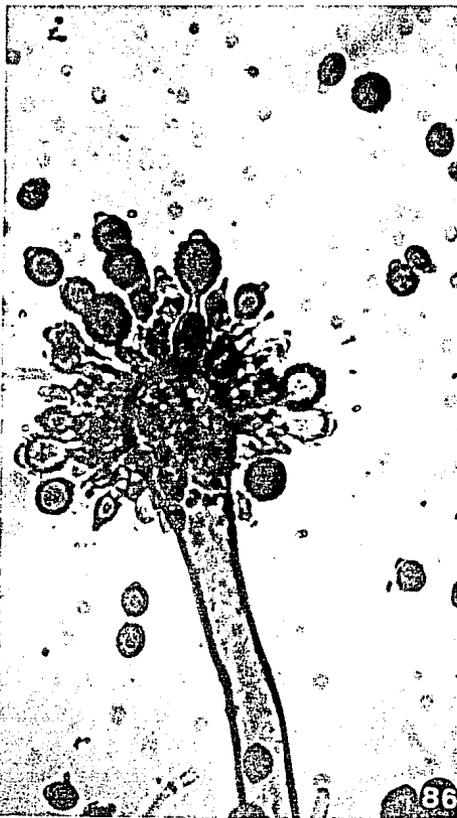
83



84



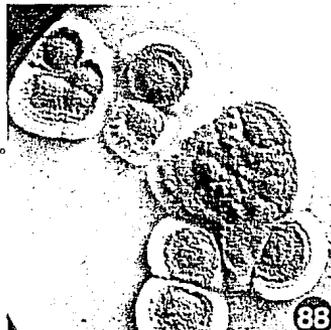
85



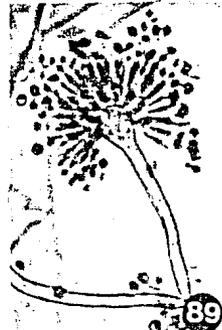
86



87



88



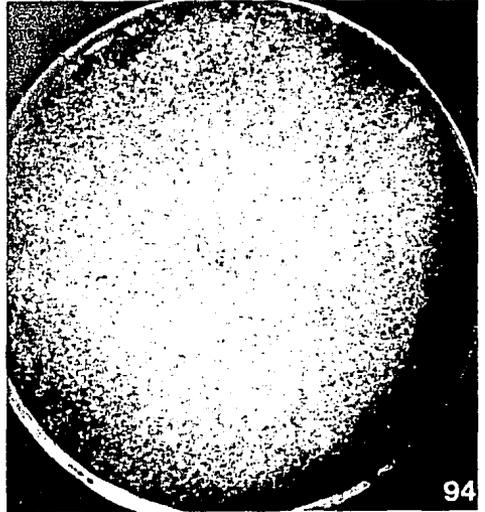
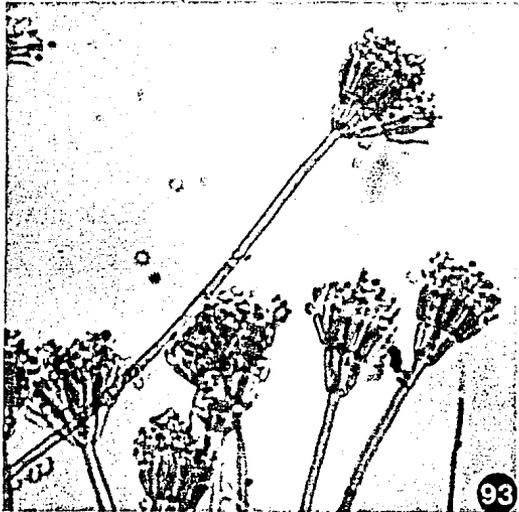
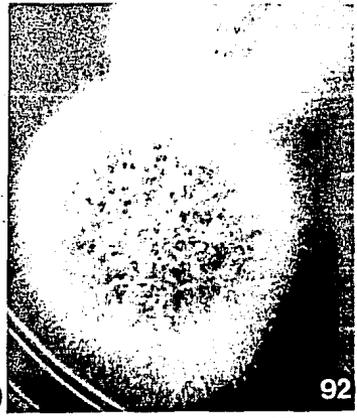
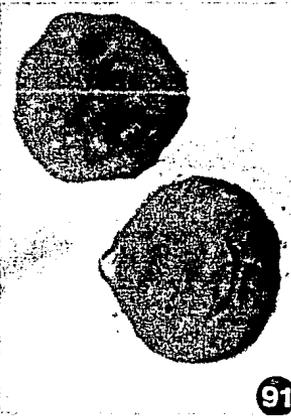
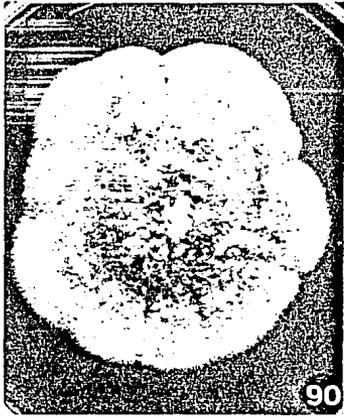
89

Figuras 90 - 96. Mohos aislados de la liga.

90 - 91. *Epicoccum purpurascens*. 90. Colonia sobre placa de PDA, de crecimiento rápido, con coloraciones amarillas, anaranjadas y rojas, y con abundante mucílago y exudado de color pardo rojizo, en los que quedan embebidos los pionnótides, que portan conidióforos cortos con conidios (el reverso es de color anaranjado brillante debido a la producción de pigmento del mismo color), X 0.95. 91. Conidios muriformes, globosos, solitarios, secos, de color oro oscuro, con pared opaca, ligeramente rugosa y con una célula basal protuberante y clara, X 1500.

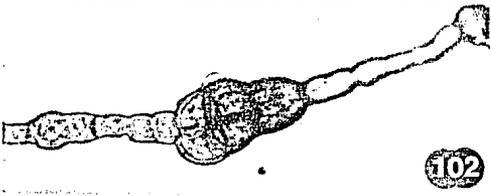
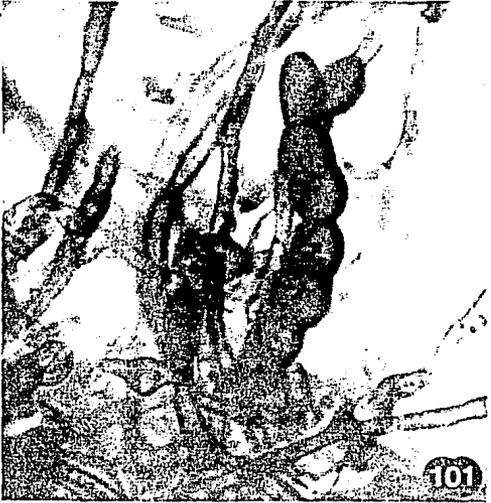
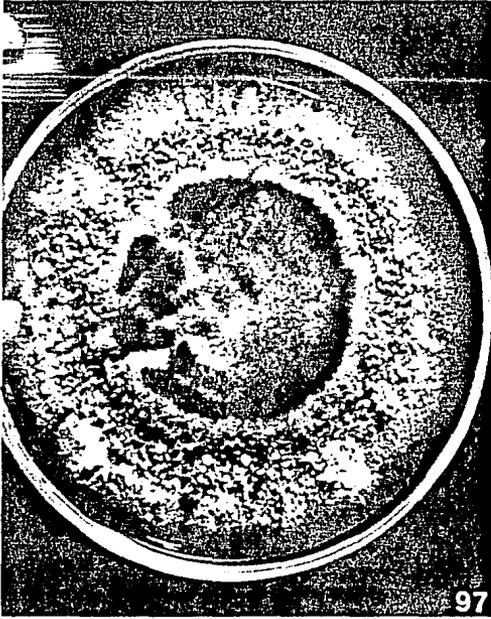
92 - 93. *Penicillium minioluteum*. 92. Colonia sobre placa de CzELA, de crecimiento moderado, plana, ligeramente flocosa, con micelio blanquecino en el margen, y de color verde agua en la zona de conidiogénesis; exudado hialino escaso (reverso rojo oscuro), X 1.25. 93. Conidióforos con penicilos biverticilados, con 6 - 9 métulas arregladas en verticilos divergentes, y 6 - 9 fiálides acerosas por cada métula; conidios elipsoidales de pared lisa y color verde, X 950.

94 - 96. *Rhizopus nigricans*. 94. Colonia sobre placa de PDA, flocosa, inicialmente de color blanco, luego con manchas gris-negruzcas a negras en las zonas de esporulación debido a la presencia de esporangios oscuros, X 1.0. 95. Sistema rizoidal ramificado y bien desarrollado, de color oro en las porciones más jóvenes y pardo oscuro en las más viejas, y en los estolones, X 110. 96. Esporangio globoso de color pardo oscuro, con peridio delgado, hialino, y abundantes esporas estriadas, ovaladas a angulares, de color ámbar a marrón; esporangióforo de pared lisa y color amarillento, X 190.



Figuras 97 - 103. Mohos aislados de la liga: *Phoma glomerata*

97. Colonia sobre placa de PDA, extendida, sectorizada debido a la presencia o ausencia de micelio aéreo. Zona central de color verde-olivo a negro y con micelio aéreo denso; zona periférica con micelio escaso y coloración crema-verdosa a salmón. Producción abundante de picnidios inmersos o semiinmersos y delimitada a la zona submarginal de la colonia, X 1.0.
98. Picnidio pirifome, unilocular, con un solo ostíolo central, a través del cual salen los conidios, X 250.
99. Porción interna del picnidio, con fiálides ampuliformes que originan conidios, X 800.
100. Conidios cilíndricos, en ocasiones ligeramente curvados o aguzados hacia la base, hialinos y generalmente bigutulados, X 1 000.
101. Cadena de clamidosporas unicelulares, de color pardo-verdoso, que pueden o no septarse longitudinal y transversalmente, X 1 100.
102. Cadena de clamidosporas alternarioides jóvenes, en proceso de septación, y de primordios de clamidosporas unicelulares, X 700.
103. Cadena de clamidosporas alternarioides, de color marrón oscuro, y de clamidosporas unicelulares de color ámbar, X 700.

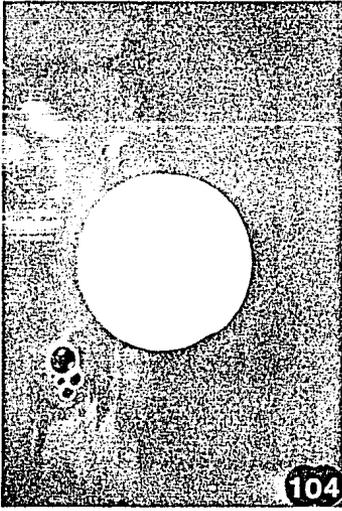


Figuras 104 - 111. Levaduras aisladas durante el proceso de elaboración y fermentación del tesgüino.

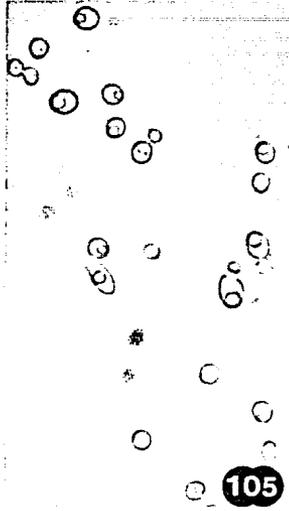
104 - 106. *Candida lusitaniae* (estado asexual de *Clavispora lusitaniae*). 104. Colonia gigante sobre placa de GELPA, de crecimiento no muy vigoroso, blanca, plana, lisa, algo brillante, de consistencia butirosa y borde continuo, X 1.8. 105. Células vegetativas, globosas o elipsoidales, solitarias o en pares, algunas con gemación multilateral, X 1 000. 106. Seudomicelio bien desarrollado en placa de Dalmau, constituido por cadenas ramificadas de pseudohifas delgadas que portan cadenas cortas de blastosporas, X 850.

107 - 108. *Candida pulcherrima* (estado asexual de *Metschnikowia pulcherrima*). 107. Colonia gigante en placa de GELPA, de lento crecimiento, blanca, lisa y brillante, algo levantada en el centro, y con borde lobado. Consistencia cremosa (reverso de color rojizo debido a la producción de pulquerrimina), X 1.5. 108. Células vegetativas globosas o elipsoidales, solitarias, que se reproducen por gemación multilateral. Clamidosporas subglobosas, muy refringentes, con un solo glóbulo de grasa; estas clamidosporas también son denominadas células de pulquerrimina porque sintetizan dicho compuesto, mismo que les confiere un color marrón, X 550.

109 - 111. *Candida valida* (estado asexual de *Pichia membranaefaciens*). 109. Colonia gigante sobre placa de GELPA, de rápido crecimiento, blanca amarillenta, opaca, butirosa, umbonada, completamente plegada, con surcos radiales y borde fimbriado; despidе un olor a frutas, X 1.0. 110. Células vegetativas ovals a elipsoidales, solitarias, en pares o en cadenas cortas, que se reproducen por gemación multilateral, X 500. 111. Seudomicelio bien desarrollado en placa de Dalmau, tanto bajo condiciones aerobias como anaerobias. Constituido por cadenas ramificadas de pseudohifas combinadas con cadenas de blastosporas, X 500.



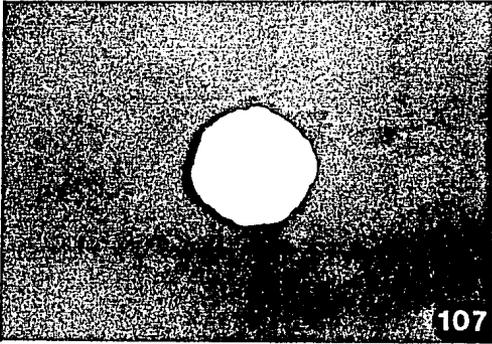
104



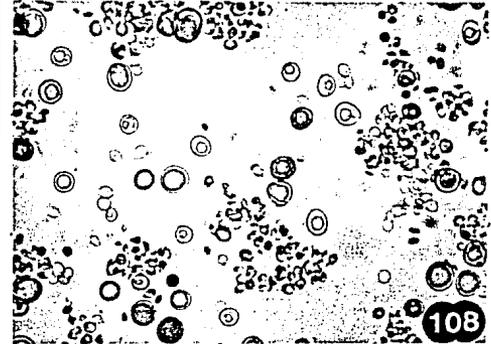
105



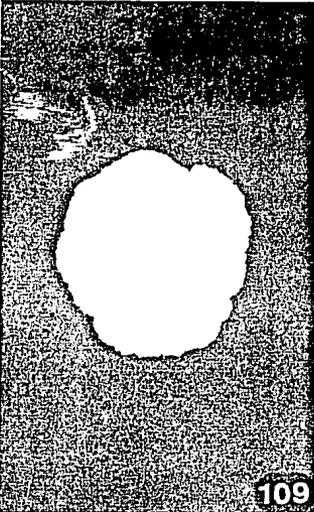
106



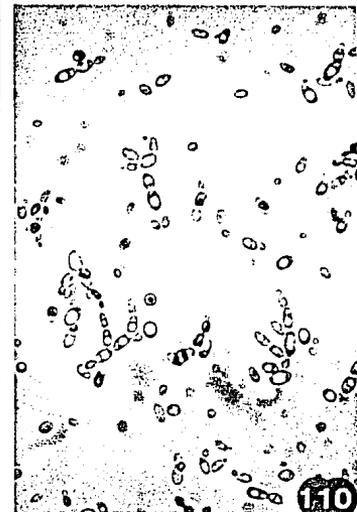
107



108



109



110



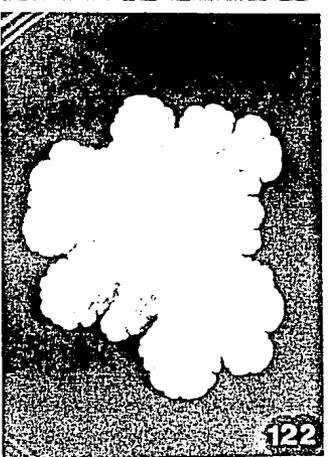
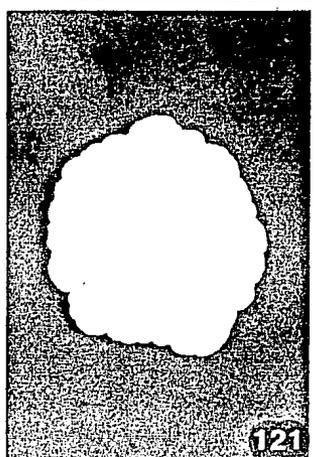
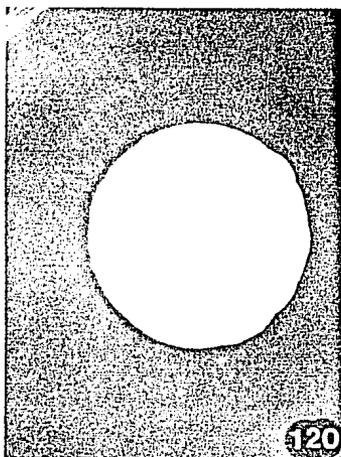
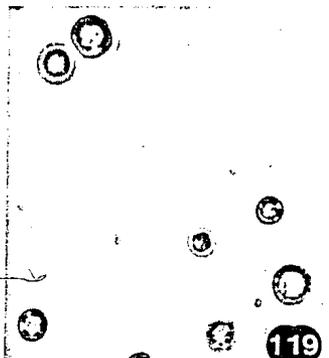
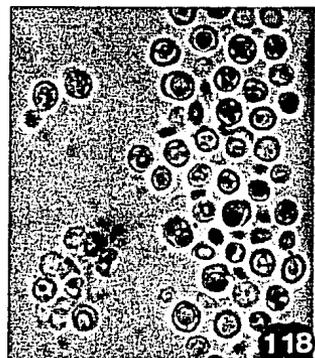
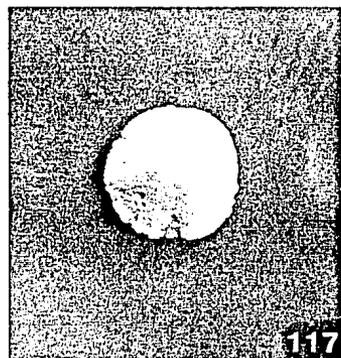
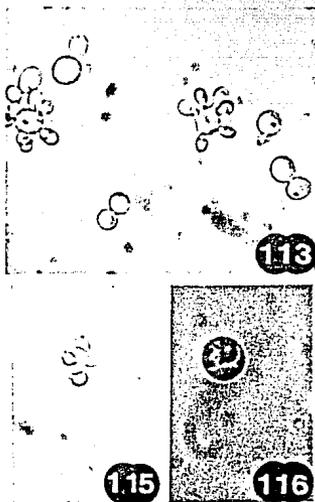
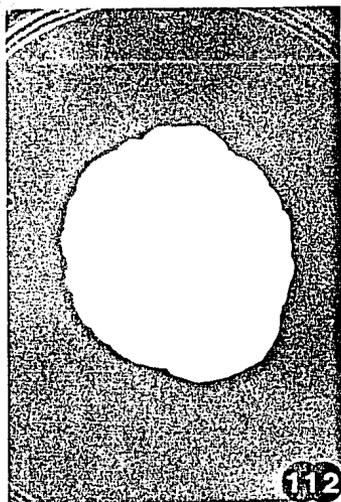
111

Figuras 112 - 122. Levaduras aisladas durante el proceso de elaboración y fermentación del tesgüino.

112 - 116. *Hansenula anomala*. 112. Colonia sobre placa de GELPA, de crecimiento vigoroso, color blanco crema, opaca, butirosa y plana, aunque algo levantada en el centro, lisa, con sectores granulados, y surcos radiales discretos, borde continuo o ligeramente lobado, con olor a frutas, X 1.0. 113. Células vegetativas esféricas a elongadas, solitarias, en pares o en pequeños racimos, con reproducción por gemación multilateral, X 800. 114. Seudomicelio bien desarrollado en placa de Dalmau, bajo condiciones anaerobias y aerobias, constituido por cadenas ramificadas de pseudohifas que dan origen a cadenas bien desarrolladas de blastosporas, X 750. 115. Asca ovalada, libre, no conjugada, con cuatro ascosporas en forma de sombrero en su interior, dehiscente, X 1000. 116. Asca esférica con una ascospora en forma de sombrero, X 1300.

117 - 119. *Cryptococcus albidus* var. *albidus*. 117. Colonia gigante sobre placa de GELPA, de crecimiento lento, color amarillo-rosado, brillante, suave y mucoso, umbonada, con surcos radiales discretos y en la periferia algo granulosa, de olor desagradable; borde irregular, plegado en algunas zonas, X 1.1. 118 - 119. Células vegetativas globosas a ovaladas, solitarias (X 750) o en pares (X 1100), que por lo general presentan una cápsula delgada y se reproducen por gemación multilateral.

120 - 122. Colonias gigantes de *Saccharomyces cerevisiae* sobre placas de GELPA, que muestran la gran variabilidad en las características culturales de la especie. 120. Colonia de crecimiento vigoroso, blanca, brillante, butirosa, plana, umbonada, de borde algo levantado y continuo; con olor a frutas, X 1.15. 121. Colonia de rápido crecimiento, de color crema-rosado brillante en el centro y blanco opaco en la periferia, cremosa, plana pero algo levantada en el centro, con surcos concéntricos y radiales y borde ondulado; con olor a frutas, X 1.0. 122. Colonia de crecimiento vigoroso, de color blanco crema, opaca, butirosa, levantada pero plana, de superficie muy irregular por presentar tanto surcos concéntricos como radiales y pliegues, con borde lobado que en algunas porciones se vuelve fimbriado; con olor a frutas, X 1.0.

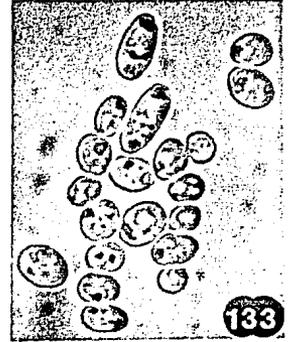
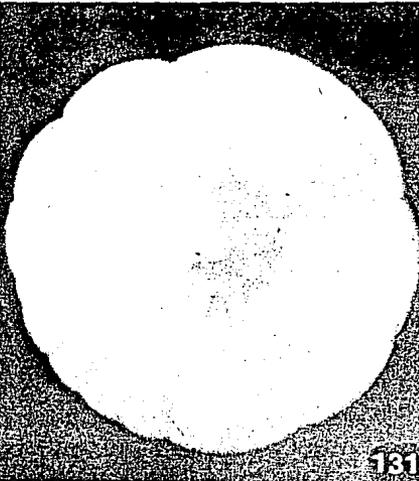
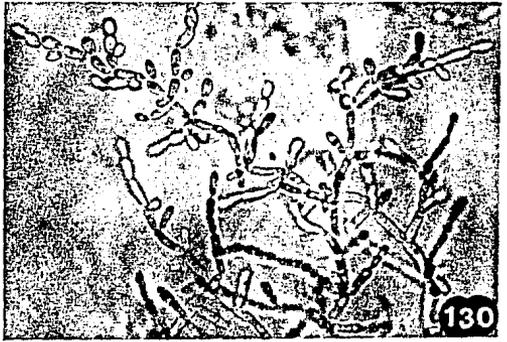
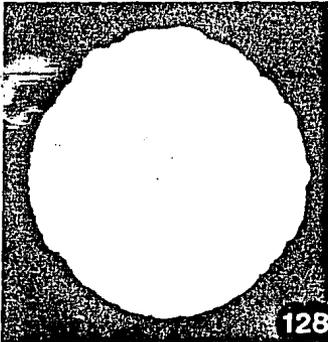
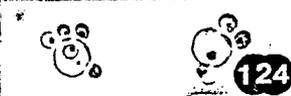
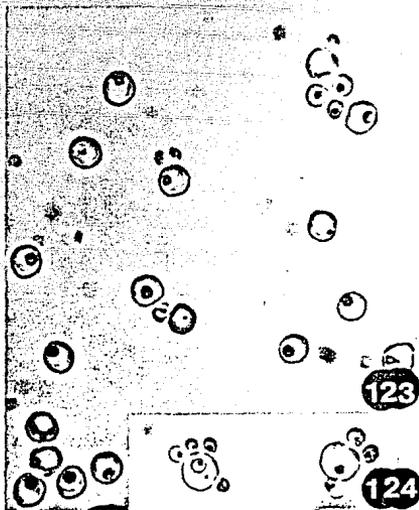


Figuras 123 - 134. Levaduras aisladas durante el proceso de elaboración y fermentación del tesgüino.

123 - 127. *Saccharomyces cerevisiae* . 123 - 124. Células vegetativas globosas a subglobosas, solitarias, en pares, en cadenas cortas o en racimos (X 950) que se reproducen por gemación multilateral, X 1 000. 125. Seudomicelio bien desarrollado bajo condiciones anaerobias en placa de Dalmau, constituido por cadenas de pseudohifas y cadenas de blastosporas, X 750. 126. Ascas romboidales u oblongas, libres, no conjugadas, persistentes, con 2,3 ó 4 ascosporas esféricas en su interior, X 1 000. 127. Asca oblonga con 3 ascosporas esféricas, X 1 300.

128 - 130. *Candida guilliermondii* (estado asexual de *Pichia guilliermondii*). 128. Colonia gigante en placa de GELPA, de crecimiento vigoroso, con unos sectores brillantes de color blanco y otros opacos de color crema-parduzco, plana, con pequeñas depresiones en la zona central, butirosa y con borde continuo o ligeramente ondulado, X 1.20. 129. Células vegetativas globosas a elipsoidales, con gemación multilateral, X 900. 130. Seudomicelio bien desarrollado bajo condiciones anaerobias en placa de Dalmau, constituido por pseudohifas ramificadas que portan cadenas de blastosporas, X 750.

131 - 134. *Saccharomyces kluyveri*. 131. Colonia gigante en placa de GELPA, de crecimiento vigoroso, en el centro umbonada y de color crema-parduzco, el resto plana, de color crema y con sectores brillantes y opacos, butirosa, con surcos radiales y borde continuo a ondulado, X 1.4. 132. Seudomicelio en placa de Dalmau constituido por cadenas de blastosporas, X 700. 133. Células vegetativas ovaladas, elipsoidales o cilíndricas, solitarias o en pares, X 1 000. 134. Asca romboide, libre, no conjugada, con 4 ascosporas esféricas, X 1 000.



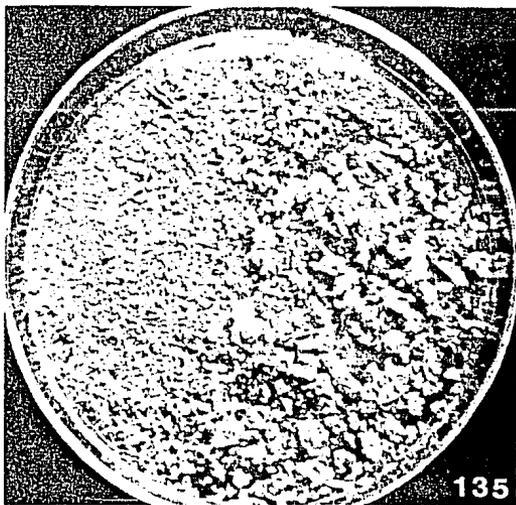
Figuras 135 - 142. Sedimento de la olla tesguinera y mohos y levaduras aislados de él.

135. Sedimento raspado de la olla tesguinera.

136 - 138. *Brettanomyces intermedius*. 136. Colonia gigante sobre placa de GELCA, de crecimiento moderado, levantada, de color crema-amarillento, butirosa, brillante, algo rugosa y con surcos radiales. Con borde ondulado y rodeada de un halo claro producido por la disolución del carbonato de calcio del medio por el ácido acético sintetizado por la levadura; despide un olor ácido característico, X 1.1. 137. Células vegetativas hialinas, ovaladas, elipsoidales, ojivales, cilíndricas a elongadas, solitarias, en pares o en cadenas cortas que se reproducen por gemación, X 850. 138. Seudomicelio bien desarrollado en placa de Dalmau, sobre todo bajo condiciones anaerobias, constituido por cadenas de pseudohifas filamentosas y blastosporas, X 700.

139 - 140. *Rhodotorula rubra*. 139. Colonia sobre placa de GELPA, de rápido crecimiento, color salmón, brillante, umbonada, lisa, con textura mucosa y borde entero, X 1.25. 140. Células vegetativas hialinas, subglobosas u ovaladas, solitarias o en pares, que se reproducen por gemación multilateral, X 950.

141 - 142. *Penicillium roquefortii*. 141. Colonia sobre placa de CzELA, de crecimiento concéntrico rápido, plana, aterciopelada, con micelio basal blanco, conidiogénesis moderada a abundante, lo que le confiere a la colonia una coloración azul turquesa a verde-azul oscuro, y borde blanco, X 1.3. 142. Conidióforo hialino, de pared delgada y tuberculada, con penicilo biverticilado constituido por un verticilo de 2 - 3 méticas espatuladas, de pared tuberculada, y un verticilo de 5 - 8 fiálides ampuliformes, que forman conidios esféricos de pared delgada y lisa, X 1 100.



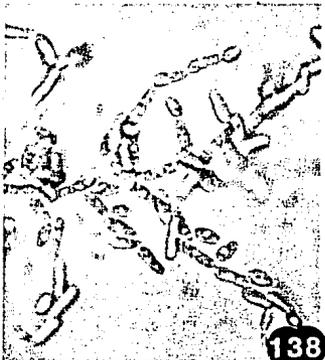
135



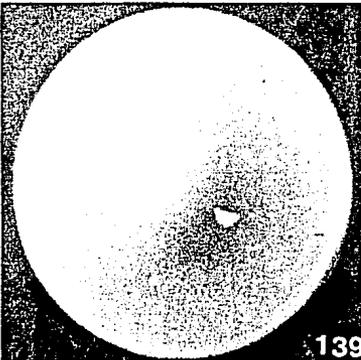
136



137



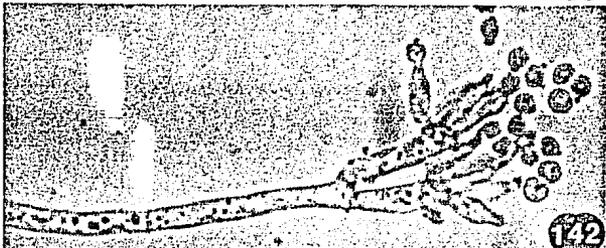
138



139



140



141



142

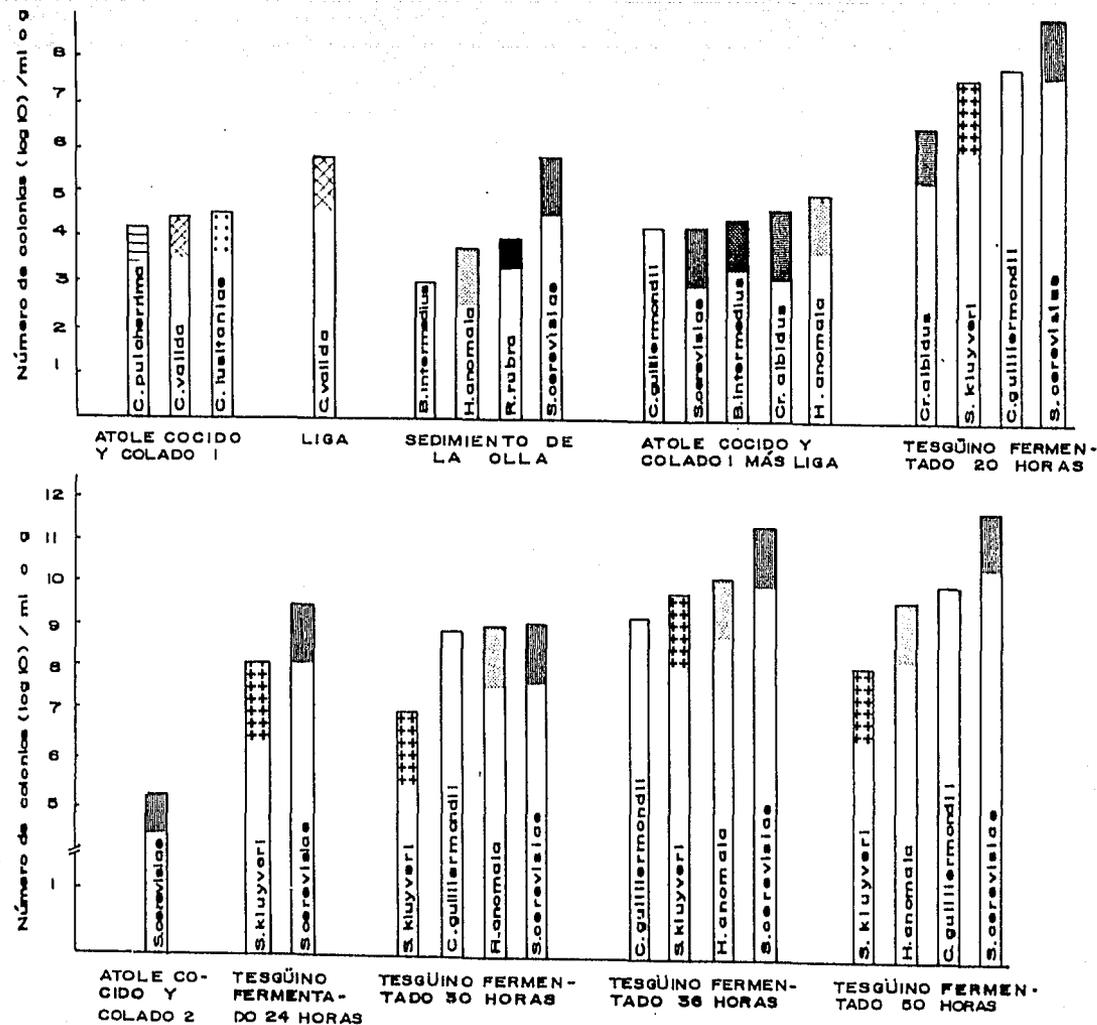
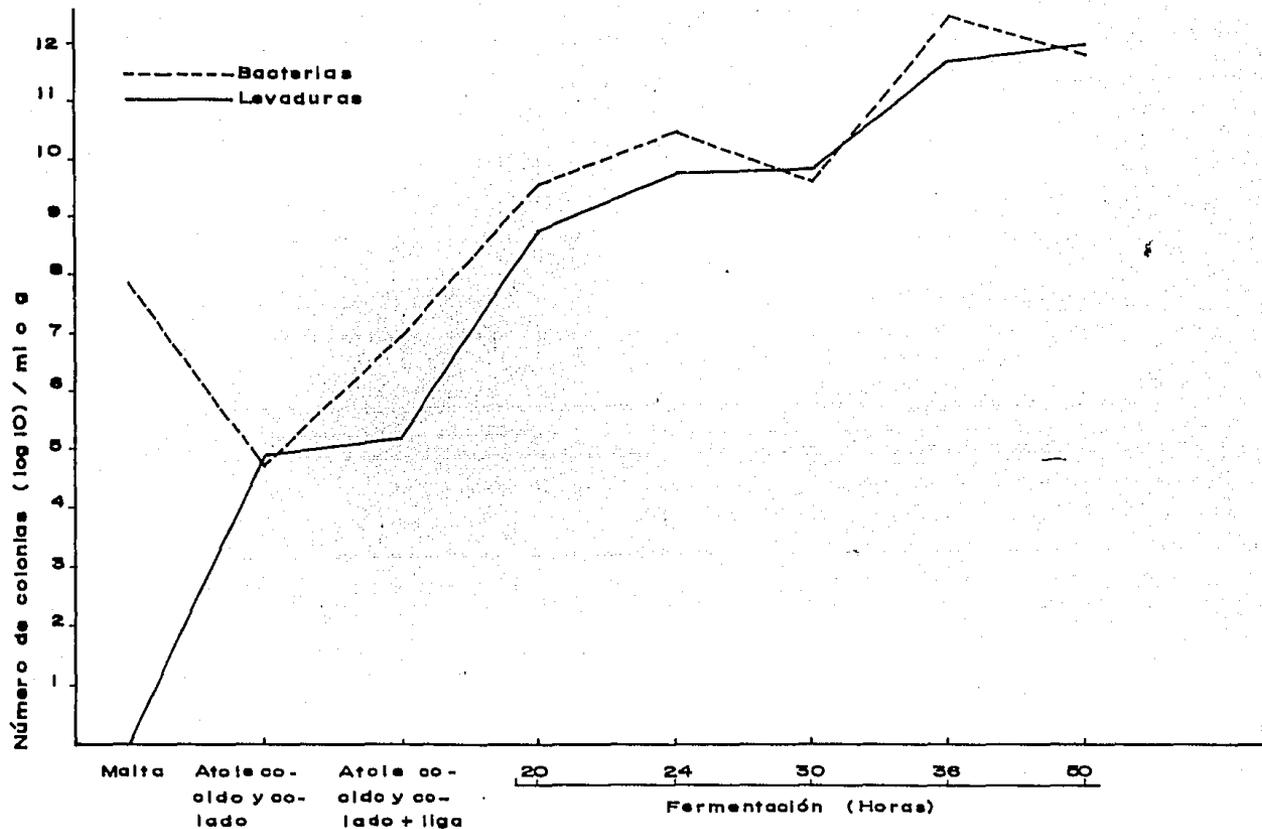


Figura 143. Cambios en las poblaciones de levaduras durante la elaboración y fermentación del tesgüino tarahumara.



Etapas del proceso de elaboración del tesgüino

Figura 144. Cambios en las poblaciones totales de bacterias y levaduras durante la elaboración y fermentación del tesgüino tarahumara.

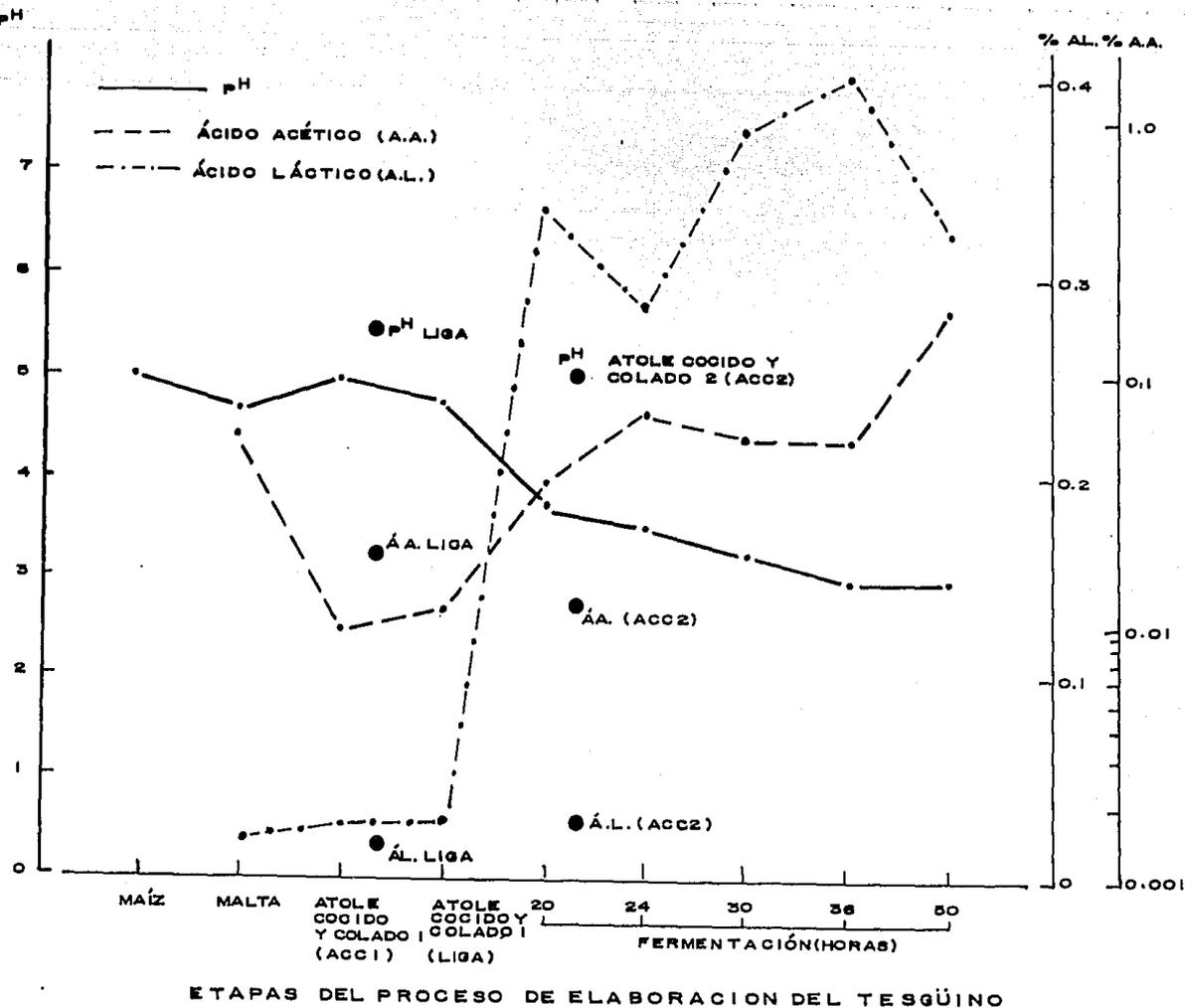


Figura 145. Cambios en el pH y en la concentración de ácido láctico y ácido acético durante la elaboración y fermentación del tesgüino tarahumara.

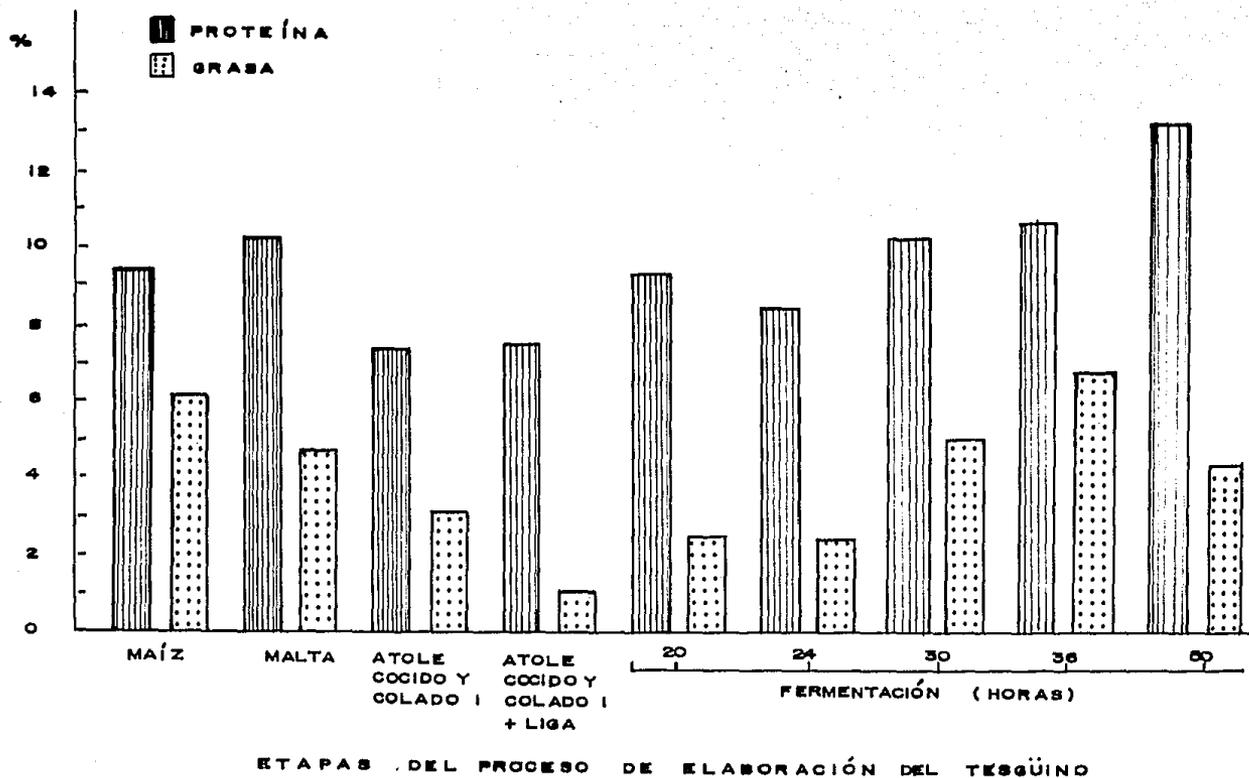


Figura 146. Cambios en la concentración de proteína y grasa (en base seca) durante la elaboración y fermentación del tesgüino tarahumara.

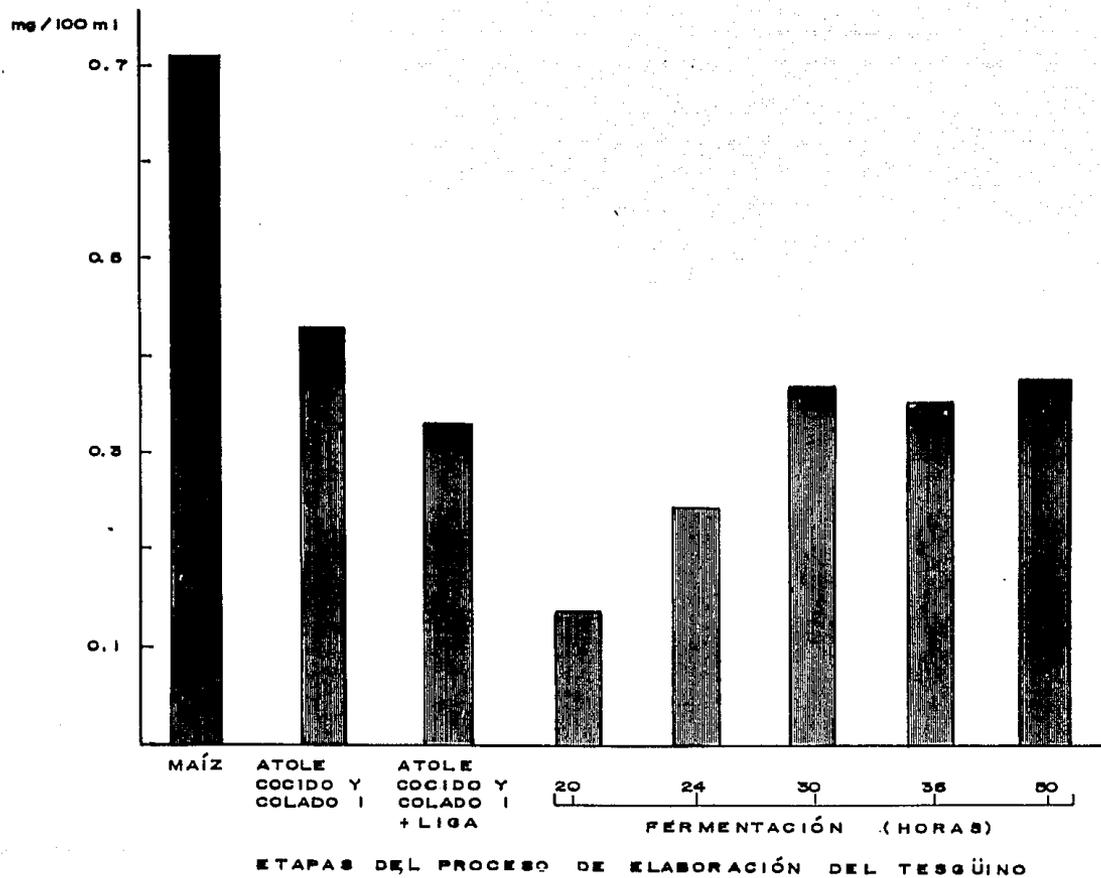


Figura 147. Cambios en la concentración de niacina durante la elaboración y fermentación del tesgüino tarahumara.

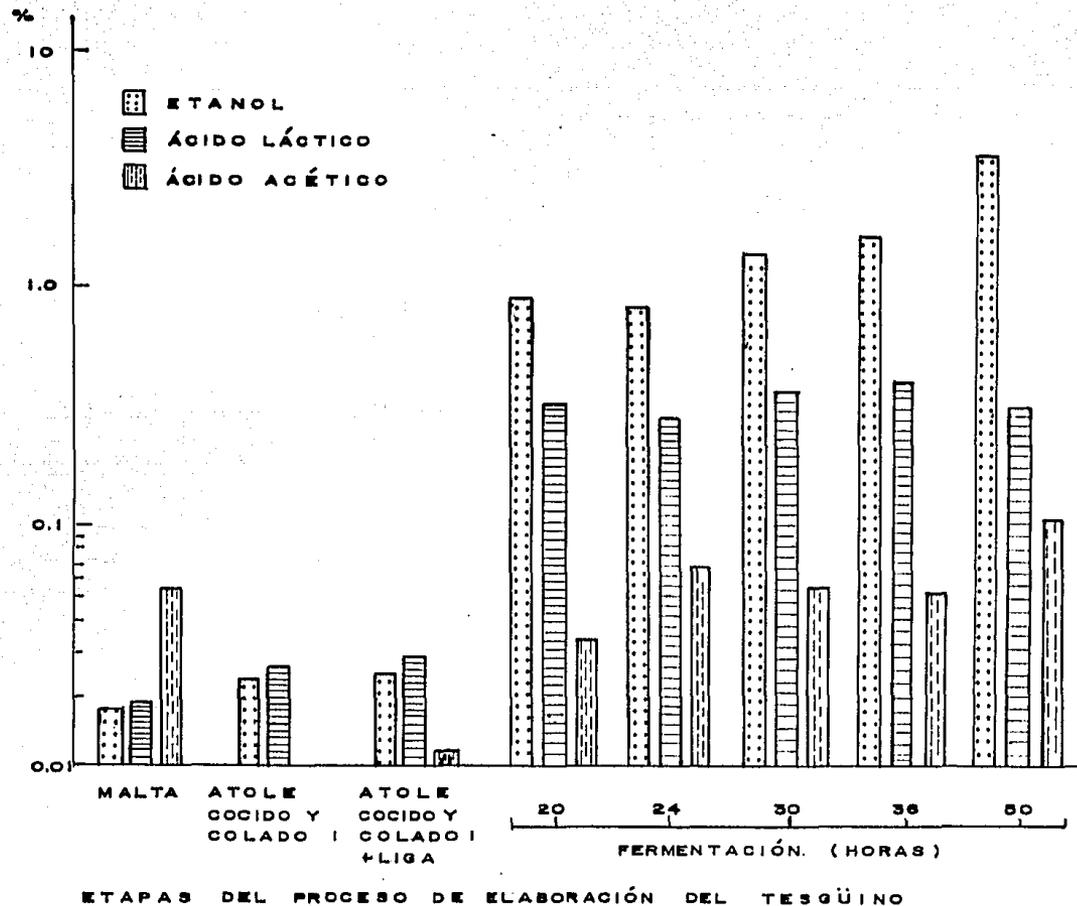


Figura 148. Cambios en la concentración de etanol, ácido láctico y ácido acético durante la elaboración y fermentación del tesgüino tarahumara.

CONCLUSIONES

Haciendo un resumen de los resultados de los estudios microbianos y químicos del tesgüino tarahumara se puede concluir que:

1. Los microorganismos más importantes que intervienen en el proceso de fermentación del tesgüino son bacterias homo y heterolácticas pertenecientes a los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Streptococcus*, así como levaduras fermentadoras activas, *Saccharomyces cerevisiae* y *S. kluyveri*, y levaduras formadoras de película, *Hansenula anomala* y *Candida guilliermondii*.

2. La principal fuente de inóculo para la fermentación se halla en la olla tesgüinera.

3. La liga o catalizador no parece constituir una fuente de inóculo o de enzimas para acelerar la fermentación.

4. La fermentación es láctica - alcohólica, seguida de una alcohólica - acética.

5. El valor nutricional del tesgüino es superior al de las materias primas utilizadas en su elaboración, pues el balance total indica incrementos en el contenido de proteína, etanol y ácido láctico.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

- Aidoo, K.E., 1986. Lesser known fermented plant foods. *Trop. Sci.* 26: 249 - 258.
- Arx, J.A. von, 1981. *The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture*, 3a.ed. J. Cramer, Vaduz, 424 pp.
- Antúnez de Mayolo, S.E., 1984. *Reseña de la nutrición del Perú precolombiano. Parte II. Bebidas.* (Editado por el autor). Apdo. Postal 18-5469, Lima 18, Perú, 84 pp.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1980. *Official Methods of Analysis*, 13a. ed. Association of Official Agricultural Chemists, Washington, D.C.
- Aucamp, M.C., J.T. Grieff, L. Novellie, B. Papendick, H.M. Schwarz y A.G. Steer, 1961. *Chicha* malting and brewing studies. VIII. Nutritive value of some kaffircorn products. *J. Sci. Food. Agric.* 12: 449 - 456.
- Barnett, J.A., R.W. Payne y D. Yarrow, 1979. *A Guide to Identifying and Classifying Yeasts.* Cambridge University Press, Cambridge, Inglaterra, 315 pp.
- Barron, G. L., 1969. *The Genera of Hyphomycetes from Soil.* Williams and Wilkins, Baltimore, 364 pp.
- Batra, L.R., 1986. Microbiology of some fermented cereals and grain legumes of India and vicinity. En: C.W. Hesseltine y H.L. Wang (eds.), *Indigenous Fermented Food of Non-Western Origin.* Mycologia Me moir No. 11. J. Cramer, Berlín, 1986, pp. 85 - 93.
- Batra, L. R. y P. Millner, 1974. Some Asian fermented foods and beverages and associated fungi. *Mycologia* 66: 942 - 950.
- Batra, L. R. y P. Millner, 1976. Asian fermented foods and beverages. *Dev. Ind. Microbiol.* 17: 117 - 128.
- Bennett, W.C. y R.M. Zingg, 1935. *The Tarahumara.* University of Chicago Publications, Anthropology and Ethnology Series, Chicago, 510 pp.

- Bernier, G. y A. Lambrechts, 1959. Étude sur les boissons fermentées indigènes du Katanga. *A. R. S. C. (Nuevas Series)* 9 (7): 12 - 45.
- Bernier, C. C., 1973. Chemical control of fungi and bacteria in stored high moisture feed grain. *Ann. Technol. Agric.* 22 (4): 587 - 593.
- Booth, C., 1979. *The Genus Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, 237 pp.
- Buchanan, R. E. y N. E. Gibbons (eds.), 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8a. ed. Williams and Wilkins, Baltimore, 1 246 pp.
- Bye, R. A., 1976. *Ethnoecology of the Tarahumara of Chihuahua, Mexico*. Tesis Doctoral, Universidad de Harvard, Massachusetts, 345 pp.
- Bye, R. A., 1979. Hallucinogenic plants of the Tarahumara. *J. of Ethnopharm.* 1: 23 - 48.
- Carmichael, J. W., W. E. Kendrick, I. L. Connors y L. Sigler, 1980. *Genera of Hyphomycetes*. The University of Alberta Press, Edmonton, Alberta, Canadá, 386 pp.
- Copeland, L. O., 1976. *Principles of Seed Science and Technology*. Burgess, Nueva York, pp. 57 - 57.
- Cook, P., 1971. Cancer of the oesophagus in Africa. A summary and evaluation of the evidence for frequency of occurrence, and a preliminary indication of the possible association with the consumption of alcoholic drinks made from maize. *Brit. Jour. of Cancer* 26 (4) : 853 - 880.
- Cook, P. y C. H. Collins, 1972. Cancer of the oesophagus and alcoholic drinks in East Africa. *Lancet* 1 : 7758.
- Cruz Ulloa, S. y M. Ulloa, 1973. Alimentos fermentados de maíz consumidos en México y en otros países latinoamericanos. *Rev. Soc. Hist. Nat.* 34 : 423 - 457.
- Cutler, H. C. y M. Cárdenas, 1947. *Chicha*, a native South American beer. *Bot. Mus. Leaflet Harv. Univ.* 13: 33 - 60.
- Christensen, C. M. y H. H. Kaufmann, 1969. *Grain Storage. The Role of Fungi in Quality Loss*. University of Minnesota Press, Minnesota, 153 pp.

- Christian, W. F. K., 1966. *Fermented Foods of Ghana*. Food Res. Inst. Accra, Ghana (mimeografiado), 10 pp.
- Derek Bewley, J. y M. Black, 1983. *Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation of Germination*. Springer - Verlag, Berlín, pp. 28 - 31, 89 - 93, 106 - 113, 177 - 189.
- Derek Bewley, J. y M. Black, 1985. *Seeds. Physiology of Development and Germination*. Plenum Press, Nueva York, pp. 89 - 100, 329 - 343.
- Dirar, H. A., 1978. A microbiological study of Sudanese *merissa*. *Brew. J. Food Sci.* 48: 1683 - 1686.
- Domsch, K. H., W. Gams y T. H. Anderson, 1980. *Compendium of Soil Fungi*. Vol I. Academic Press, Nueva York, 859 pp.
- Ellis, M. B., 1971. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, 608 pp.
- Ellis, J. J., H. L. Wang y W. Hesseltine, 1974. *Rhizopus* and *Chlamydomucor* strains surveyed for milk-clotting, amylolytic and antibiotic activities. *Mycologia* 61 (4): 593 - 599.
- Ekundayo, J. A., 1969. The production of *pito*, a Nigerian fermented beverage. *J. Food Technol.* 4: 217 - 225.
- Ekundayo, J. A., 1977. Nigerian *pito*. *Symposium on Indigenous Fermented Foods*. Bangkok, Tailandia.
- Escobar, A., 1977. *The South American Maize Beverage, Chicha*. Tesis de Maestría, Universidad de Cornell, Ithaca, Nueva York, 128 pp.
- Escobar, A., A. Gardner y K. H. Steinkraus, 1977. Studies of South American *chicha*. *Symposium of Indigenous Fermented Foods*. Bangkok, Tailandia.
- Faparusi, S. I., 1970. Sugar changes during preparation of *burukutu* beer. *J. Sci. Food Agric.* 21: 79 - 81.
- Faparusi, S. I., M. O. Olorumboba y J. A. Ekundayo, 1973. The microbiology of *burukutu* beer. *Z. Allg. Mikrobiol* 13: 563 - 568.
- García, E., 1973. *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana)*. Instituto de Geografía, UNAM, México, 71 pp.

- Gilman, J., 1959. *A Manual of Soil Fungi*, 2a. ed. The Iowa State University Press, Iowa, 450 pp.
- Gómez, P. J., 1949. La *chicha*, su fabricación y algunas sugerencias técnicas adicionales a las disposiciones legales en actual vigencia. *Notas agronómicas, Estación Agrícola Experimental de Palmira, Colombia*, 2 (3): 20 - 42.
- González, R. L., 1985. *Tarahumara*. Edición especial. Chrysler de México, México, 178 pp.
- Gordon, R. E. y J. M. Mihm, 1959. *J. Gen. Microbiol.* 21: 736 - 740.
- Harkishor, K. M., 1977. Kenyan sugar cane wine, *muratina*. *Symposium on Indigenous Fermented Foods*. Bangkok, Tailandia.
- Herrera, T., J. Taboada y M. Ulloa, 1972. Fijación de nitrógeno en el tesgüino y el pulque. *An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. México. Ser. Biol. Exp.* 43 (1): 77 - 78.
- Herrera, T. y M. Ulloa, 1973. *Saccharomyces cerevisiae*, una levadura fermentadora del tesgüino de los indios tarahumares. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 7: 33 - 38.
- Herrera, T. y M. Ulloa, 1976 - 1982. *Pichia membranaefaciens* y su estado asexual, *Candida valida*, aisladas del tesgüino de Chihuahua, México. *An. Inst. Biol. Univ. Nal. Autón. México. Ser. Bot.* 47 - 55: 113 - 121.
- Hesseltine, C. W., 1979. Some important fermented foods of Mid - Asia, the Middle East and Africa. *J. Am. Oil. Chemist. Soc.* 56: 367 - 374.
- Hesseltine, C. W. y H. L. Wang, 1980. The importance of traditional fermented foods. *BioScience* 30 (6): 402 - 404.
- Horton, D., 1945. The functions of alcohol in primitive societies. *Quart. J. Studies on Alcohol* 4: 153 - 177.
- ISTA, 1976. International rules for seed testing. *Seed Sci. Technol.* 4: 3 - 49.
- Iturbe, Ch., F., 1981. *Purificación y caracterización de un inhibidor de α -amilasa en maíz H-28*. Tesis de Maestría en Ciencias Químicas (Bioquímica), Facultad de Química, UNAM, 166 pp.

- Kandler, O. y H. Stetter, 1977. Sauerkraut. *Symposium on Indigenous Fermented Foods*. Bangkok, Tailandia.
- Kennedy, J.G., 1963. Tesguino Complex: the role of beer in Tarahumara culture. *Amer. Anthropol.* 55 (3) : 620 - 640.
- Kennedy, J. G., 1978. *Tarahumara of the Sierra Madre. Beer, Ecology and Social Organization*. AHM Publishing Co., Arlington Heights, Illinois, 245 pp.
- Kreger van Rij, J. J. W. (ed.), 1984. *The Yeasts. A Taxonomic Study*, 3a. ed. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1082 pp.
- La Barre, W., 1938. Native American beers. *Amer. Anthropol.* 40 (2): 224 - 235.
- Leal, H., C. Wachter., E. Álvarez, A. López y C. Saint - Phard, 1987. Estudio de cambios en el contenido protéico de sub-productos agrícolas por fermentación con micofloras mixtas. *Simposio Biotecnología para la producción de biomasa y tratamiento de desperdicios*. Antigua, Guatemala (en prensa).
- Lehninger, A. L., 1985. *Bioquímica*, 2a. ed. Omega, Barcelona, pp. 636, 777.
- Litzinger, W., 1983. *The Ethnobiology of Alcoholic Beverage Production by Lacandon, Tarahumara and other Aboriginal Mesoamerican Peoples*. Tesis Doctoral, Universidad de Boulder, Colorado, 178 pp.
- Lovelace, C. E. A., 1977 . Estimation of nutrient content of two fermented beverages from Zambia, opaque maize beer and *mun-koyo*. *Symposium on Indigenous Fermented Foods*. Bangkok, Tailandia.
- Lovelace, C. E. A. y C. B. Nyathi, 1977. Estimation of fungal toxins zearalenone and aflatoxin contaminating opaque maize beer in Zambia. *J. Sci. Food. Agric.* 28 (3): 288 - 292.
- Lumholtz, C., 1902. *Unknown Mexico*, Vol. 1, Scribner's Sons, Nueva York, 530 pp.
- Marasas, O. F. W., S. J. van Rensburg y C. J. Mirocha, 1979. Incidence of *Fusarium* species and the mycotoxins, deoxynivalenol and zearalenone in corn produced, in oesophageal cancer areas in Transkei. *J. Agric. Food Chem.* 27 (5): 1108 - 1112.

- Marasas, W. F. O., P. Nelson y T. A. Toussaun, 1984. *Toxigenic Fusarium Species. Identity and Mycotoxicology*. Pennsylvania State University Press, Pennsylvania, pp. 248 - 251.
- Martin, P. M. D. y P. Keer, 1978. Occurrence of zearalenone in raw and fermented products of Swaziland and Lesotho. *Sabouradia* 16 (1): 15 - 21.
- Mbugua, S. K., 1977. Munkoyo consumption survey in Zambian towns and cities. *Symposium on Indigenous Fermented Foods*. Bangkok, Tailandia.
- Mendoza, G., 1870. Sendechō. *Bol. Soc. Mex. Geog. Est.* 2 (2): 25 - 28.
- Merril, W. L., 1978. Thinking and drinking: A Raramuri interpretation. En: R. I. Ford, (ed.), *The nature and status of ethnobotany*. Ann Arbor, MI: Museum of Anthropology, University of Michigan, *Anthro. Papers* 67: 101 - 117.
- Miracle, M. P., 1965. Food technology in tribal Africa. En: M. S. Peterson y D. K. Tressler (eds.), *Food Technology the World Over*, 1965, Vol. 2, Cap. 16, Ed. Aci Pub. Co., Westport, Connecticut, pp. 107 - 154.
- Morcos, S. R., S. M. Hegazi y S. T. El-Damhougy, 1973. Fermented foods of common use in Egypt. II. The chemical composition of bouza and its ingredients. *J. Sci. Food. Agric.* 24: 1157 - 1161.
- Moreno, M. E., y C. M. Christensen, 1972. Fungus flora of black and white pepper (*Peper nigrum* L.). *Rev. lat-amer. Microbiol.* 14: 19 - 22.
- Müller, H. G., 1970. Traditional cereal processing in Nigeria and Ghana. *Ghan. J. Agric. Sci.* 3: 187 - 195.
- Müller, H. G., 1986. Fermented cereal products of tropical Africa. En: C. W. Hesseltine y H. L. Wang (eds.), *Indigenous Fermented Food of Non-Western Origin*. Mycologia Memoir. No. 11. J. Cramer, Berlin, 1986, pp. 193 - 197, 213 - 214.
- Muñoz, G. D. y G. Viniegra, 1981. Fijación de nitrógeno atmosférico por cultivo mixto de una bacteria láctica y *Azotobacter chroococcum*. *Rev. lat-amer. Microbiol.* 23: 213 - 217.

- Nabhan, G. P., J. W. Berry y C. W. Weber, 1980. Wild beans of the greater southwest, *Phaseolus metaalfei* and *P. ritensis*. *Econ. Bot.* 34 (1); 68 - 85.
- Nicholson, G. E., 1960. *Chicha*, maize types and *chicha* manufacture in Perú. *Econ. Bot.* 14: 290 - 299.
- Nkanga, E. J., 1981. The microbiology of *oyokpo*, a traditionally fermented beer in Bandel state of Nigeria. *Acta Bacteriol.* 1 (1): 41 - 47.
- Nout, M. J. R., 1980a. Microbiological aspects of the traditional manufacture of *busaa*, a Kenyan opaque maize beer. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebens.* 6: 137 - 142.
- Nout, M. J. R., 1980b. Process development and preservation of *busaa*, a Kenyan traditional opaque maize beer. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebens.* 6: 175 - 182
- Nout, M. J. R., 1981. The role of lactic acid fermentation in the context of food manufacture in Kenya. *En. S. O. Emejuaiwe, S. O. Ogunbi y S. O. Sanni (eds.), Global Impacts of Applied Microbiology, GIAM VI.* Academic Press, Londres, 1981, pp. 169 - 175.
- Novellie, L., 1966. Biological ennoblement and *kaffir* beer. *Food Technol.* 20: 101 - 110.
- Novellie, L., 1968. *Kaffir* beer brewing: ancient art and modern industry. *Wallerstein Lab. Comm.* 31: 17 - 32.
- Novellie, L., 1977. Beverages from sorghum and millets. *Cereal Chemistry Symposium on Sorghum and Millets for Human Food*, Viena, pp. 73 - 77.
- Novellie, L., 1986. Sorghum beer and related fermentations of South Africa. *En: C. W. Hesseltine y H. L. Wang (eds.), Indigenous Fermented Food of Non-Western Origin.* Mycologia Memoir No. 11, J. C. Cramer, Berlín, 1886, pp. 219 - 225.
- O' Donnell, K. L., 1979. *Zygomycetes in Culture.* Palfrey Contributions in Botany No. 2, University of Georgia, Athens, Estados Unidos, 257 pp.
- Pamir, M. H., 1961. Microbiological and chemical investigations on *boza* (millet beer). Universidad de Ankara, Turquía, Ziraat Fakültesi Yayinlari: 176, pp. 1 - 60.

- Pearson, I. D., 1970. *The Chemical Analysis of Food*, 6a. ed. Churchill, London, 315 pp.
- Pennington, C. W., 1963. *The Tarahumara of Mexico. Their Environment and Material Culture*. University of Utah Press, Salt Lake City, 267 pp.
- Pennington, C. W., 1969. *The Tepehuan of Chihuahua. Their Material Culture*. University of Utah Press, Salt Lake City, 413 pp.
- Pitt, J. I., 1979. *The Genus Penicillium and its Teleomorphic States Eupenicillium and Talaromyces*. Academic Press, Londres, 634 pp.
- Pitt, J. I., 1985. *A Laboratory Guide to Common Penicillium Species*. Commonwealth Scientific And Industrial Research Organization, Division of Food Research, North Ryde, Australia, 125 pp.
- Platt, B. S., 1955. Some traditional alcoholic beverages and their importance in indigenous African communities. *Proc. Nutr. Soc.* 14: 115 - 124.
- Platt, B. S. y R. A. Webb, 1946. Fermentation and human nutrition. *Proc. Nutr. Soc.* 4 : 132 - 140.
- Potter, N. N., 1978. *Food Science*, 3a. ed. The Avi Publish. Co., Westport, Connecticut, pp. 211 - 223.
- Pozo, M. C., 1983. *Fermentación láctica para la conservación de alimentos fermentados. Ensilaje de Manihot esculenta enriquecida con Aspergillus niger*. Tesis de Licenciatura en Biología, Facultad de Ciencias, UNAM, 89 pp.
- Rabie, C. J., W. F. O. Marasas, P. G. Thiel, A. Lübben y R. Vleggaar, 1982. Moniliformin production and toxicity of different *Fusarium* species from South Africa. *Appl. and Environ. Microbiol.* 43 : 517 - 521.
- Raper, K. B. y D. I. Fennell, 1977. *The Genus Aspergillus*, 3a. ed., Robert Krieger, Huntington, Nueva York, 686 pp.
- Robelo, A. C., 1948. *Diccionario de Aztequismos*. Fuente Cultural, México, 548 pp.
- Rose, A. H. y J. S. Harrison (eds.), *The Yeasts*, Vol. 1., *The Biology of Yeasts*, 1969, 508 pp., Vol. 3, *Yeast Technology*, 1970, 570 pp., Academic Press, Londres.

- Santamaría, F. J., 1978. *Diccionario de Mexicanismos*, 3a. ed. Porrúa, México, 1207 pp.
- Schultes, R. E., 1982. *Plantas alucinógenas*. Ediciones científicas de La Prensa Médica Mexicana, México, 161 pp.
- Schwarz, H. M., 1956. Kaffircorn malting and brewing studies. I. The kaffir beer brewing industry in South Africa. *J. Sci. Food Agric.* 7: 101 - 105.
- Service, E., 1969. The northern Tepehuans. En: E. Z. Vogt (ed.), *Handbook of Middle American Indians*, Vol. 8, Parte 2, Middle American Research Institute, Universidad de Tulane, University of Texas Press, 1969, pp. 824 - 827.
- Spicer, E. H., 1969. Northwest Mexico. En: E. Z. Vogt (ed.), *Handbook of Middle American Indians*, Vol. 8, Parte 2, Middle American Research Institute, Universidad de Tulane, University of Texas Press, 1969, pp. 777 - 791.
- Steinkraus, K. H. (ed.), 1983. *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. Marcel Dekker Inc., Nueva York, pp. 340 - 373.
- Stewart, B. R. y A. Getachew, 1962. Investigation of the nature of enjara. *Econ. Bot.* 16: 127 - 130.
- Strohecker, R., 1965. *Vitamin Assay Test Methods*. Henning Verlag Chemic., Winheim, pp. 207 - 212.
- Sumner, S. B. y S. F. Howell, 1935. A method of saccharase activity. *J. Biol. Chem.* 108: 51
- Sutton, B. C., 1980. *The Coelomycetes*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, 696 pp.
- Taboada, J., T. Herrera y M. Ulloa, 1971. Prueba de la reducción del acetileno para la determinación de microorganismos fijadores de nitrógeno aislados de pozol. *Rev. lat-amer. Quím.* 2 (4): 188 - 191.
- Taboada, J., M. Ulloa, L. Estrada - Cuéllar y J. Díaz Garcés, 1987. Estudio de las levaduras de los tibicos y pruebas de alimentación con aves y roedores utilizando estas zoogreas en la dieta. *Rev. lat-amer. Microbiol.* 29: 73 - 83.

- Ulloa, M., 1974. Mycofloral succession in pozol from Tabasco, México. *Bol. Soc. Méx. Mic.* 8 : 17 - 48.
- Ulloa, M., 1981. Indigenous fermented beverages of Mexico. En: S. O. Emejuaiwe, O. Ogunbi y J. O. Sanni (eds.), *Global Impacts of Applied Microbiology, GIAM VI*, Academic Press, Londres, 1981, pp. 45 - 49.
- Ulloa, M., T. Herrera y G. de la Lanza, 1971. Fijación de nitrógeno atmosférico por microorganismos del pozol. *Rev. lat-amer. Microbiol.* 13: 113 - 124.
- Ulloa, M. y T. Herrera, 1972. Descripción de dos nuevas especies de bacterias aisladas del pozol: *Agrobacterium azotophilum* y *Achromobacter pozolis*. *Rev. lat-amer. Microbiol.* 14: 15 - 24.
- Ulloa, M., C. Salinas y T. Herrera. 1974. Estudio de *Bacillus megaterium* aislado de tesgüino de Chihuahua, México. *Rev. lat-amer. Microbiol.* 16 (4): 209 - 211.
- Ulloa, M., T. Herrera y J. Taboada, 1971. *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces uvarum* aisladas de diferentes muestras de tesgüino del estado de Jalisco, México. *Bol. Soc. Méx. Mic.* 11: 15 - 22.
- Ulloa, M. y R. T. Hanlin, 1978. *Atlas de micología básica*. Concepto, México, pp. 12 - 19.
- van der Walt, J. P., 1956. Kaffircorn malting and brewing studies. II. Studies on the microbiology of kaffir beer. *J. Sci. Food Agric.* 7 : 105 - 113.
- van Veen, A. G. y A. H. Steinkraus, 1970. Nutritive value and wholesomeness of fermented foods. *Agric. Food Chem.* 18 : 576 - 578.
- Vogel, S. y A. Gobezie, 1977. Ethiopian tej. *Symposium on Indigenous Fermented Foods*. Bangkok, Tailandia.
- Whitby, P., 1968. Foods of Ghana. *Food Res. Inst. Res. Rep.* (Ghana) 1: 1-31.
- Wilkes, H. G., 1986. Interesting beverages of the Eastern Himalayas. *Econ. Bot.* 22 : 347 - 353.

Woolfe, M. y J. Woolfe, 1984. Some traditional processed foods of South America. *Proc. Inst. Food Sci. Tech. (U. K.)* 17: 131 - 138.

Zycha, H., R. Siepman y G. Linnemann, 1969. *Mucorales*. J. Cramer, Lehre, 355 pp.