

## NOTA ACERCA DE LA MICROBIOLOGIA DEL AGUAMIEL Y DEL PULQUE

Por MANUEL RUIZ O.,  
del Instituto de Biología.

**E**L aguamiel de los magueyes mansos es un líquido azucarado, incoloro, ligeramente ácido, límpido y transparente; posee un olor herbáceo especial y un sabor dulce agradable, aunque irritante para las mucosas. Los aguamieles de otros magueyes son opalinos o más o menos amarillentos, algunas veces blanquecinos y mucilaginosos, el sabor dulce disminuye y en las clases inferiores se vuelve casi insípido.

El aguamiel después de ser extraído de la planta comienza inmediatamente a fermentar, lo que se nota por el aumento de su reacción ácida; por lo que es indispensable conducirlo desde luego a los tinacales.

La mayor parte del aguamiel se emplea, desde luego, en la elaboración del pulque; pero asimismo es evaporado y forma un jarabe llamado miel de maguey, una especie de azúcar de color moreno; o bien se transforma en vinagre.

Observando el aguamiel al microscopio se notan una gran cantidad de bacterias de distintas especies, en su mayoría coccus y pequeña cantidad de levaduras. Hicimos varias cuentas de bacterias en las distintas clases de aguamieles obteniendo como resultado un promedio de 800,000 a 1,500,000 por milímetro cúbico. Existen en menor cantidad en los aguamieles finos que en los corrientes.

Respecto a las levaduras, existen en una mínima proporción comparadas con las bacterias. De más de cien cuentas en distintos aguamieles obtuvimos un promedio de 3,000 a 6,000 levaduras por milímetro cúbico, encontrando mayor cantidad en los aguamieles de mejor calidad como el que proporciona el maguey manso, en el cual llegamos a contar 8,000, 12,000 y hasta 15,000 levaduras por milímetro cúbico; en cambio en aguamieles de inferior calidad llegamos a contar hasta 800 levaduras, aunque por lo general tienen de 1,500 a 3,000.

Haciendo varios cultivos de aguamiel en cajas de Petri, de Petroff y en tubos con distintos medios como mosto simple, mosto gelosado, gelatinizado, Sabouraud, papa, zanahoria, gelatina, Gorodkova, etc., lo-

gramos aislar las levaduras, y aunque aún no podemos precisar las distintas especies encontradas, sí creemos se encuentran por lo menos 4 especies, pertenecientes a los géneros, *Saccharomyces*, *Pichia*, *Mycoderna* y *Torula*. En estudios posteriores precisaremos las especies con todas sus características.

Según Lindner, se necesitaría mucho tiempo de estudio para determinar con precisión los micro-organismos del aguamiel y del pulque. Desde hace mucho tiempo, distintos investigadores se han ocupado de este punto, llegando todos a la conclusión de que pueden clasificarse en dos grupos: el de las levaduras y el de las bacterias.

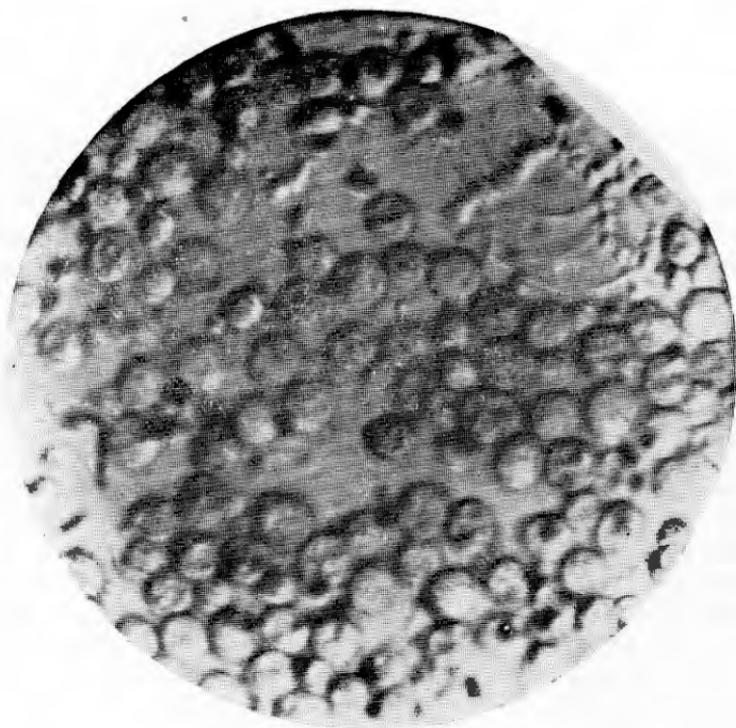


Fig. 1.—Microfotografía de las levaduras del pulque. (I. Larios).

El primer investigador que observó las levaduras del pulque, fué el Dr. Barragán, en el año de 1870 diciendo de ellas "son unas células de 0.008 mm. esféricas u ovoides, a veces libres pero más comúnmente reunidas, dos, tres, hasta cuatro, en una línea flexuosa; de consistencia blanda, transparentes; compuestas de una membrana, un contenido y un núcleo, perceptibles distintamente sólo con ciertos reactivos; cre-

cen por yemas y se reproducen verosimilmente por seminulas que se separan fácilmente de las células; viven en el pulque y no están compuestas de celulosa y sí de uno o varios principios azotados". Clasificó a esta levadura en la familia de las "algas", clase "Isocarpeas", subclase "Malacophiceas", tribu de las "Gimnospermeas", orden "Eremospermeas", suborden "Micophiceas"; familia "Cryptoceas", género "Cryptococcus". La especie no la determinó llamándole solamente *Cryptococcus* del pulque.

Estudios posteriores, entre ellos los del Dr. Carbajal nos dan a conocer entre las levaduras el *Saccharomyces cerevisiae agavica*, y entre las bacterias, *Bacterium aceiti*, *Bacilo V. o viscosus*, *Micrococcus lutens*, *Micrococcus translucidus* y como accidentales *Torula rosada*, *Micrococcus cinabareus*, *Sarcina amarilla*, *Micrococcus rosado*, un clatrrix, *Penicillium glaucus*, *Aspergillus glaucus* y *Mucor mucedo*.

El Dr. Segura encontró los mismos micro-organismos, y Guillermond estudió las levaduras, encontrando dos especies perteneciendo una al género *Pichia* y que llamó "Levadura del Pulque Número 1" y la otra al género *Saccharomyces* que denominó "Levadura del Pulque Número 2". En sus estudios, están perfectamente determinadas todas sus características. Otros investigadores, han encontrado las mismas especies, llamándolas *Pichia agave* y *Saccharomyces agave*, cuyos caracteres están descritos en el trabajo de la Sra. Morton.

En cuanto a las bacterias, que en mayor variedad se encuentran en el aguamiel y en el pulque, fueron estudiadas sobre todo por Lindner, cuyos trabajos interesantísimos se encuentran publicados en alemán en un libro titulado "*Mikroskopische Betriebskontrolle in den Garungsgewerben*". Berlín, 1930.

Parte de esos trabajos se encuentran publicados en la tesis de la Sra. Morton, siendo clasificadas las bacterias en tres grupos.

10.—**Bacterias que producen ácido láctico y anhídrido carbónico.**—Son las siguientes: *Bacillus acidificans*, *Streptococcus minor*, *Sarcina mayor*, *Sarcina minor*, *Termobacterium mobile*.

20.—**Bacterias que al mismo tiempo que producen ácido láctico forman una masa más o menos viscosa.** Son las siguientes: *Streptococcus corrosus*, *Leuconostoc* del pulque, *Sarcina corrosa*, *Diplobacter viscosum*.

30.—**Bacterias que atacan el azúcar y el alcohol para la formación de productos secundarios.** Que son las siguientes: *Oidium lactis*, *Bacillus xylinum* y *Granulo-Bacter-amiel-alcoholicum*.

Todas estas bacterias fueron clasificadas por Lindner, encontrando además una productora de hidrógeno que llamó *Bacterium iridicens*.

Por nuestra parte, creemos, que las levaduras del aguamiel, son por lo menos cuatro especies distintas, pertenecientes a los géneros ya citados. En cuanto al pulque, se encuentran en él las mismas especies, pero además hay otras distintas, no menos en total, de 8 a 12 especies, todas ellas perteneciendo a los géneros *Saccharomyces*, *Pichia*, *Mycoderma*, *Hansenia* y *Torula*.

La cantidad de levaduras y bacterias contenidas en el aguamiel y en el pulque, es muy distinta, pues en el aguamiel se encuentran muy pocas levaduras y muchas bacterias en cambio en el pulque sucede lo contrario. Haciendo varias cuentas, en distintas clases de pulques, tomados directamente del tinacal, encontramos un promedio de 250,000 a 300,000 levaduras por milímetro cúbico; como mínimo encontramos 150,000 y como máximo 400.000. Respecto a las bacterias encontramos un menor número que en el aguamiel, resultando un promedio de 100,000 a 200,000 por milímetro cúbico. Esto se debe a la acidez del pulque que favorece el desarrollo de las levaduras y no el de las bacterias. Obtuvimos los anteriores promedios después de efectuar más de cien cuentas en distintos pulques.

Es de notar que el pulque que se expende, tiene mayor cantidad de bacterias que el que se obtiene del tinacal; esto se debe al aguamiel que se le agrega al conducirlo a su destino, y el que le añaden los expendedores, así como el agua, jarabes, jugos de frutas, etc.

Por lo anterior se puede notar, que la riqueza del pulque en levaduras, es admirable, lo que le da un gran poder nutritivo, por las vitaminas que aquéllas contienen.

Tanto las levaduras como las bacterias, cultivan perfectamente en distintas clases de medios líquidos y sólidos, prefiriendo las primeras medios un poco ácidos y las segundas alcalinos. Hemos logrado aislar la mayoría de las especies sobre todo en lo que respecta a levaduras, en tubos, cajas de Petri y de Petroff, y las tenemos actualmente en estudio, para determinar todas sus características que nos permiten apreciar sus cualidades, sobre todo las fermentativas, y clasificarlas de una manera precisa.

#### BIBLIOGRAFIA.

1772. BARTOLACHE, José Ignacio.— Uso i abuso del pulque para curar e historia de esta bebida i de la planta que la produce. En: "Mercurio Volante" p. 57. México, 1772.
1780. CLAVIJERO. Abate D. Francisco Saverio.—Storia antica del Messico cavata da'migliori storici spagnuoli, e da'manoscritti, e dalle pitture an tiche degl'indiani; Divisa in dieci libri, e corredata di carta geografiche, e di varie figure e dissertazione sulla Terra, fugli Animalì, e fugli abitatori del Messico. — 1780. Tomo I, pp. 58. II. pp. 158, 222.
1792. DE ACOSTA, Padre Toseph.—Historia Natural y Moral de las Indias, en que se tratan las cosas notables del cielo, elementos, metales, plantas y animales de ellas; y los ritos, ceremonias, leyes, gobierno y guerras de los indios. — 1792 .T. I. pp. 243.
1863. PAYNO, Manuel.—Memoria sobre el Maguey Mexicano y sus diversos productos.  
En: Boletín de la Sociedad de Geografía y Estadística. Tomo 10. p. 382. México, 1863-1864.

1863. PIMENTEL, Francisco.—Observaciones a los nombres Aztecas de que usa Hernández al hablar del Maguey.  
En: Boletín de la Sociedad de Geografía y Estadística. Tomo 10, p. 543. México, 1863-1864.
1863. RIO DE LA LOZA, Leopoldo.—Apuntes sobre algunos productos del Maguey.  
En: Boletín de la Sociedad de Geografía y Estadística. Tomo 10, p. 531. México, 1863-1864.
1864. RIO DE LA LOZA, L. y PIMENTEL F.—Apuntes sobre algunos productos del Maguey.  
En: Anales del Instituto Médico Nacional. Apéndices. Tomo VIII, p. 151. México, 1864.
1870. BARRAGAN, José.—El Criptococcus del Pulque.  
En: La Naturaleza. Periódico de la Sociedad Mexicana de Historia Natural. Tomo 1, p. 238. México, 1870.
1874. GUERRERO Y VISIERA, Francisco.—El Vino del Maguey.  
Escuela Nacional de Medicina. Tesis. Vol. I.  
México, 1874.
1875. SANCHEZ OCHCA, Gaspar.—El Maguey.—(Trata del artículo sobre la Sinonimia.—Estudio Botánico y productos industriales).  
En: Boletín de la Sociedad de Geografía y Estadística. Vol. II, p. 2799, 3a. época. México, 1875.
1881. RAMOS, José.—Breve estudio sobre la degeneración grasosa del hígado que se observa en México en sus relaciones con el abuso del pulque.  
Facultad de Medicina de México. Tesis. México, 1881.
1884. LOBATO, José G.—Estudio químico industrial de los varios productos del Maguey Mexicano y análisis químico del aguamiel y el pulque.  
Tipografía de la Secretaría de Fomento. México, 1884.
1889. BOUSSINGAULT, J. B.—Memoire sur la composition du pulque, bois son fermentée, préparée avec la seve du Maguey. (Agave Americana).  
En: Archives de la Commission Scientifique du Mexique. Tome I, p. 208, París, 1889.
1891. SEGURA, José.—El Maguey. Memoria sobre el cultivo y beneficio de sus productos.  
3a. edición. Oficina Tip. de la Sría. de Fomento. México, 1891.
1896. ALTAMIRANO, F.—Contribución al estudio del pulque.  
En: Anales del Instituto Médico Nacional. Tomo II, p. 52. México, 1896.
1896. GAVIÑO, Dr. A.—Estudio higiénico-bacteriológico del pulque.  
En: Revista Quincenal de Anatomía Patológica y Clínicas Médica y Quirúrgica. Tomo I, p. 246. México, 1896.
1896. MARTINEZ BACA, Francisco.—Profilaxis del escorbuto en las prisiones, por el pulque. (Memoria presentada al Congreso de Salubridad Pública en Buffalo, N. Y., U. S. A.)

- En: Revista de Anatomía Patológica y Clínicas Médica y Quirúrgica. Tomo I, p. 449 y 477. México, 1896.
1898. TOUSSAINT, M.—Algunas consideraciones acerca de la cirrosis del hígado.  
En: Revista de Anatomía Patológica y Clínicas Médica y Quirúrgica. Tomo III, p. 393. (Particularmente p. 396). México, 1898).
1901. CARBAJAL, Antonio J.—Estudio sobre el pulque, considerado principalmente desde el punto de vista zimotécnico.  
En: Boletín de la Sociedad Agrícola Mexicana. Vol. 255, números 33 y 34. México, 1901.
1901. GAVIÑO, A.—Micro-organismos del Pulque. — (Dibujos).  
En: Boletín del Instituto Patológico. Tomo I, pp. 14 y 44. México, 1901.
1901. SEGURA, José.—El Maguey.—Memoria sobre el cultivo y beneficio de sus productos.  
Biblioteca de la Sociedad Agrícola Mexicana. 4a. edición. México, 1901.
1905. LOZANO.—Acidos del pulque. Informe, Sección 2a.  
En: Anales del Instituto Médico Nacional, Tomo VII, p. 258. México, 1905.
1905. PAYNO, Manuel.—Memoria sobre el Pulque. Nueva edición.  
En: Anales del Instituto Médico Nacional. Tomo VIII. (Después del apéndice), pp. 65. México, 1905.
1905. RIO DE LA LOZA, Francisco.—Memorias sobre el Pulque.  
En: Anales del Instituto Médico Nacional, Tomo VIII, p. 151. México, 1905.
1908. MOTA, José E.—Informe de la Sección de Patología Experimental. (Perros bebedores de pulque).  
En: Boletín del Instituto Patológico. Tomo VI, p. 200. México, 1908-1909.
1909. O'GORMAN Y ALLEN.—Examen general y analítico del pulque que se expende en la ciudad de México.  
Imprenta "Murguía", México, 1909.
1909. PRIETO, I.—Informe de la Sección de Patología Experimental.  
En: Boletín del Instituto Patológico. Tomo 7, p. 212, 2a. época. México, 1909.
1912. CARBAJAL, Antonio J.—La fermentación racional del pulque.  
En: Memorias y Revista de la Sociedad "Antonio Alzate". Tomo 32, p. 219. México, 1912.
1917. GUILLERMOND, A.—Levaduras del Pulque.  
En: Boletín de la Dirección de Estudios Biológicos. Tomo II, p. 22. México, 1917.
1917. MARIA CAMPOS, M. de.—Las Fermentaciones.  
En: Boletín de la Dirección de Estudios Biológicos. Tomo II, p. 114. México, 1917.

1917. RIQUELME, Dr. Silvino.—Breves apuntes sobre el pulque considerado desde los puntos de vista higiénico, social y económico. En: Memorias y Revista de la Sociedad "Antonio Alzate". Tomo 39, p. 303. México, 1917.
1920. CABRERA, Dr. L. G.—Breve resumen de las observaciones realizadas sobre la acción que el Pulque ejerce en los cuys. En: Memorias y Revista de la Sociedad "Antonio Alzate". Tomo 39, p. 387. México, 1920.
1920. OCARANZA, Fernando.—Algunas modificaciones biológicas que produce en el organismo del cuy, la inyección intraperitoneal de las levaduras del pulque. En: Revista Mexicana de Biología. Tomo I, p. 74. México, 1920-1921.
1920. OCHOTERENA, Isaac.—El proceso íntimo de la secreción de las células del Maguey del Pulque. En: Memorias y Revista de la Sociedad "Antonio Alzate", Tomo 35, p. 379. México, 1920.
1920. RIQUELME, Silvino.—El alcoholismo y el pulque. En: Memorias de la Sociedad "Antonio Alzate". Tomo 35, p. 2. 49. México, 1920.
1924. ARMENDARIZ, Gonzalo.—Contribución al estudio de la acción patológica del pulque en el organismo. Editorial "Cultura". México, 1924.
1925. MORTON GOMEZ, María.—Aprovechamiento Industrial del Maguey. Capítulo III.—Elaboración del Pulque, propiedades físicas, químicas y fisiológicas. Análisis. Facultad de Ciencias Químicas. Tesis. Tomo II, No. 10. México, 1925.
1926. BELTRAN, Enrique.—Estudio anatomo-patológico de las lesiones hepáticas producidas en el cuy por la ingestión del pulque. En: Memorias de la Sociedad "Antonio Alzate". Tomo 46, p. 171. México, 1926.
1926. CORDOVA Y GURRIA, Francisco.—Una observación del alcoholismo en un cuy heredo-alcohólico. En: Boletín de la Dirección de Estudios Biológicos. Tomo 3. p. 48. México, 1926.
1926. CORDOVA Y GURRIA, Francisco.—Muerte intrauterina del producto por alcoholismo crónico y experimental. En: Boletín de la Dirección de Estudios Biológicos. Tomo 3, p. 68. México, 1926.
1926. GONZALEZ, Magdalena.—Monografía de los pulques. Universidad Nacional de México. Tesis. Tomo I, No. 5. México, 1926.
1926. LINDNER, Paul.—La importancia práctica y científica del estudio del pulque. En: Revista Mexicana de Biología. Tomo 6, p. 221. México, 1926.
1928. PACHECO, Fernando.—Elaboración higiénica del pulque. Universidad Nacional de México. Tesis. Facultad de Ciencias Químicas. Vol. 3, No. 1. México, 1928.

1930. LINDNER, Paul.—Mikroskopische und biologische Betriebskontrolle in den Garungsgewerben mit besonderer Berücksichtigung der Brauerei zugleich eine Einführung in die technische Biologie Hefenreinkultur, Infektionslehre und allgemeine Gärungskunde Mit 324 textabbildungen.  
Verlagsbuchhandlung Paul Parey. Berlin, 1930.
1932. ALVAREZ VELEZ, Ignacio.—Estudio químico del producto del aguamiel precipitable por el alcohol etílico concentrado, separado de las bacterias y levaduras.  
Facultad de Ciencias Químicas. Tesis. Vol. 7, No. 9. México.
1932. FERNANDEZ TAGLE, G.—Estudio de las vitaminas y de la fermentación viscosa en el pulque.  
Universidad Nacional de México. Tesis. Facultad de Ciencias Químicas. Vol. 3, No. 6. México, 1932.
1932. LINDNER, Paul.—Resultados biológicos de un viaje de estudio a Méjico. (Trata del pulque).  
En: "Investigaciones y Progreso". Año VI, No. 6, p. 98. Madrid.
1932. MAYANS VICTORIA, Humberto.—El Pulque, sus defectos higiénicos. La vinificación del aguamiel.  
Escuela Médico Militar. Tesis. Tomo I, No. 7. México, 1932.
1932. SANCHEZ MARTINEZ, Dora.—Contribución al estudio bacteriológico de la flora anaeróbica del pulque.  
Facultad de Ciencias Químicas. Tesis. Vol. 5, No. 3, México.
1932. VARELA, G.—Contribución al estudio de la bacteriología del Pulque.  
En: Boletín del Instituto de Higiene. Tomo I, No. 4. 2a. época. México, 1932.
1933. COPPOLA, Paula.—Investigación del ácido láctico en el Pulque.  
Facultad de Ciencias Químicas. Tesis. Vol. 9, No. 6. México.
1934. ANDA PEDROZA, Carmen.—Importancia del micro-análisis en la investigación de elementos minerales en el aguamiel.  
Facultad de Ciencias Químicas. Tesis, Vol. II, No. 5. México.
1936. RUIZ Y ANGELES.—Cuanteo del indol para estimar su aumento o disminución en la simbiosis del colibacilo con las levaduras del champagne, cerveza y pulque.  
Facultad de Ciencias Químicas. Tesis. Tomo 18, No. 1. México, 1936.

NOTA:—La Bibliografía tan completa que hemos anotado, y que mucho nos sirvió en nuestros estudios, se debe al laborioso trabajo del señor Crisóforo Vega, bibliotecario del Instituto de Biología.