



APROVECHAMIENTO DE SUERO LACTEO EN EL DESARROLLO DE UN MEDIO DE CULTIVO PARA LA PRODUCCION DE UNA BACTERIOCINA DE INTERES COMERCIAL A PARTIR DE UNA BACTERIA ACIDO LACTICA.

Teresa Andrade², Adán Chávez¹, Fernando García¹, Erik Ocaranza². 1. ALTECSA S.A. de C.V. Huamantla Tlaxcala. CP 90500, 2. CIBA Tlaxcala CP 90700, tandraderosas1984@gmail.com

Palabras clave: Bacteriocinas, Bacterias ácido lácticas, suero lácteo.

Introducción. Las bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas o bacterias lácticas (BAL) son de particular interés para la industria alimentaria (1); son péptidos o proteínas pequeñas (<10 kDa), sintetizadas ribosomalmente y con actividad antimicrobiana. Su espectro antimicrobiano frecuentemente incluye organismos deterioradores de alimentos como *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*.

El lactosuero, suero lácteo (SL) o suero de queso es el líquido que se separa de la leche cuando ésta se coagula para la obtención del queso e incluye todos los componentes de la leche (lactosa y lactoglobulinas principalmente) que no se integran en la coagulación de la caseína. Una de las alternativas de aprovechamiento del suero lácteo puede ser a través de procesos fermentativos; ya que puede ser utilizado como medio de cultivo para la producción de biomasa (proteína unicelular como la levadura para panificación), metabolitos (lípidos, pigmentos, alcoholes, ácidos orgánicos, biopolímeros) y enzimas (2). El objetivo de éste trabajo fue diseñar un medio de cultivo a base de suero lácteo para la producción de una bacteriocina a partir de una bacteria ácido láctica

Metodología. Se cultivó una BAL durante 24 horas en medio MRS (medio comercial reportado para el crecimiento de BAL) obtenida a partir de un stock para lograr activar las células, y a partir de este cultivo semilla se inculó el medio de crecimiento y producción. Las condiciones de cultivo fueron: 30°C, 100 rpm por 48 horas. Se monitoreo el pH, el crecimiento por turbidimetría (A_{660nm} para el MRS y A_{600nm} para el medio a base de suero lácteo) y actividad con el bioensayo de actividad en placa (3) usando como microorganismo indicador a *Micrococcus luteus*. Este microorganismo se cultivó en Caldo Nutritivo (CN) y se embebió en el mismo medio con agar a una turbidez de $A_{650nm}=0.3$, ya gelificado el agar, se hicieron las perforaciones de 5.5 mm de diámetro y se colocaron 20µl de muestra (Figura 3).

Resultados. En cada fermentación se registró el crecimiento y la producción de la bacteriocina, tanto en MRS como en SL 10%Sup (Suero lácteo líquido al 10%, Extracto de levadura 1.2%, KH_2PO_4 0.0569% y $MgSO_4$ 0.0572%) (4). El comportamiento de ambos medios de cultivo respecto al crecimiento y al pH fueron muy similares (Figura 1). Con respecto a la actividad antimicrobiana obtenida en ambos medios se hizo la cuantificación a partir de una curva estándar de los sobrenadantes provenientes de ambos medios de cultivo (Figura 2). En ambos casos, la mayor actividad antimicrobiana de los extractos se obtuvo alrededor de las 12 horas de fermentación; en MRS se obtuvo una actividad de 1145.69 UI/ml y para el SL10%Sup fue de 877.20 UI/ml.

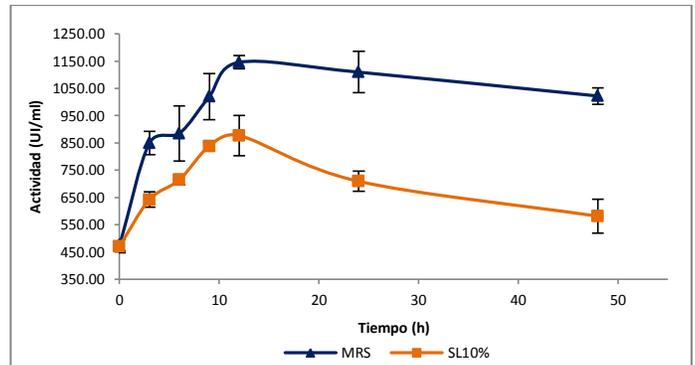


Fig. 2. Actividad antimicrobiana de sobrenadantes obtenidos de ambos medios (MRS y SL10%Sup) a distintos tiempos de fermentación.

En la Figura 3 se observan los halos de inhibición a partir de los sobrenadantes de la fermentación en SL10%Sup a las 6, 9, 12, 24 y 48 horas de fermentación.

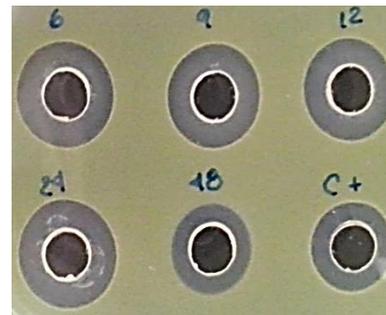


Fig. 3. Bioensayo de actividad en placa. Las placas fueron incubadas 24-36 horas a 30°C y se midió el halo de inhibición en cuatro direcciones a partir del borde del pozo hacia el exterior. C+, control positivo de una muestra comercial.

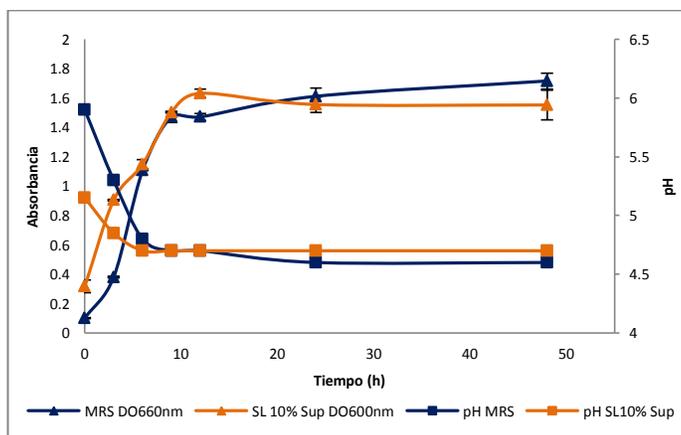


Fig. 1. Crecimiento y cambio de pH de la BAL en medio MRS (azul) y SL10%Sup (naranja) a 30°C y 100 rpm. Se muestran los resultados en MRS y SL10%Sup respecto al pH (cuadrado) y absorbancia (triángulo) a lo largo de la fermentación.

Conclusiones. Se obtuvo un medio de producción para una bacteriocina con actividad bactericida, a partir de un medio de cultivo basado en suero lácteo, el cual deberá optimizarse para aumentar la producción de la bacteriocina. Este medio tiene la ventaja de ser un medio de bajo costo y sustentable.

Agradecimientos. Este proyecto se ha desarrollado como parte del Posgrado en Biotecnología Productiva en el CIBA-IPN Tlaxcala en colaboración con ALTECSA S.A de C.V.

Bibliografía.

1. Nettles, C. G., & Barefoot, S. F. (1993). Biochemical and genetic characteristics of bacteriocins of food associated lactic acid bacteria. *Journal of Food Protection*, 56, 338-356
2. Valencia DE y Ramírez CM (2009). La industria de la leche y la contaminación del agua. *Elementos* 73: 27-31
3. Pongtharangkul, T. and Demirci, A. (2004) Evaluation of agar diffusion bioassay for nisin quantification. *Appl Microbiol Biotechnol* 65, 268-272.
4. Liu, W., and Hansen, J. N. (1990). Some chemical and physical properties of nisin, a small antibiotic produced by *Lactococcus lactis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 56: 2551-2558.