



PRODUCCION DE BACTERIOCINAS POR *L. LACTIS* UQ2 Y SU EFECTO ANTI-LISTERIA

Grethel Peña Gomar¹, Scott E. Martin², Blanca E. García Almendárez¹ y Carlos Regalado González¹. ¹Universidad Autónoma de Querétaro, C.U., Cerro de las campanas S/N, Querétaro 76010, Qro. Fax (442) 1921304. ²Universidad de Illinois en Urbana-Champaign, 1207 West Gregory Drive, Urbana, IL 61801, EUA. grethel3p@yahoo.com.mx

Palabras clave: bacteriocinas, *Listeria*, suero lácteo.

Introducción. Las bacteriocinas de las bacterias ácido lácticas (BAL) tienen un potencial uso como bioconservadores para el control de bacterias deterioradoras de alimentos y patógenas como *Listeria monocytogenes*, el cual tiene habilidad para adherirse a superficies de procesamiento de alimentos, formando biopelículas resistentes a la desinfección. La producción de bacteriocinas es usualmente realizada en medios complejos, pero su alto costo no hace viable el proceso para producirla a gran escala. Esto ha incrementado el interés por utilizar subproductos de la industria alimentaria como base del medio de cultivo, tal como el suero lácteo.

El objetivo de este estudio fue identificar los factores principales que afectan la producción de bacteriocinas por *Lactococcus lactis* UQ2, usando suero suplementado como medio de cultivo alternativo; así como las propiedades anti-*Listeria* del extracto libre de células (ELC).

Metodología. El efecto del suero lácteo, extracto de levadura (EL) $MnSO_4$, $MgSO_4$, Tween 80, y el flujo de aire en la producción de bacteriocina durante el crecimiento de *L. Lactis* UQ2 fue analizado usando un diseño factorial fraccionado 2^{5-1} con tres réplicas al centro. Se usó un fermentador de 3L (Applikon Mod. ADI 1035), 30°C, 200 rpm, durante 24 h. Se determinó el perfil de crecimiento del *L. lactis* mediante Miles-Misra (1) y los azúcares totales (2). La actividad antimicrobiana se determinó mediante la técnica de difusión en agar (3) utilizando como microorganismo indicador el *M. luteus* NCIB 8166. La actividad se expresó en Unidades Arbitrarias por mililitro (UA/ml), usando el recíproco de la dilución más alta que produjo una zona de inhibición del microorganismo indicador. La sensibilidad de siete cepas de *L. monocytogenes* se realizó a dos diferentes actividades del ELC (6400UA/ml y 51200UA/ml), en tubos con caldo soya tripticaseína (CST) inoculados con 10^3 - 10^5 UFC/ml de *Listeria*, e incubados 18 y 24 h a 37°C. Para determinar el efecto del ELC en las biopelículas de *L. monocytogenes* Scott A se utilizaron placas de acero inoxidable (304L, No.4) de 2.54x2.54 cm para su formación. Se realizó la técnica para la adhesión y desarrollo de las biopelículas (4). Se añadieron 0.2ml del ELC en las placas, se incubaron 24 h (a 100% de HR). Se realizó la cuenta viable, y se dejó una placa sin tratamiento para usarse como control.

Resultados y discusión. De acuerdo al diseño de escrutinio, el flujo de aire mostró no tener un efecto significativo ($p < 0.05$) en la producción de bacteriocina. La formulación del medio de acuerdo al diseño estadístico en la cual se obtuvo el mayor título de actividad de bacteriocina fue: flujo de aire 248 ml/min, suero lácteo 10g/L, EL 10g/L

$MgSO_4/MnSO_4$ 0.5/0.1 g/L y Tween 80 0.2%. La cual produjo una mayor actividad (12,800UA/ml/8 h), que en el medio MRS (6400UA/ml/10h) en un menor tiempo. Todas las cepas de *Listeria* fueron sensibles al ELC. La cepa más sensible fue *L. monocytogenes* 10403S mientras que la *L. monocytogenes* Scott A fue la más resistente. El análisis del efecto en las biopelículas de *L. monocytogenes* Scottt A demostró que el ELC (0.92g/L) reduce la población de *Listeria* 3 ciclos Log (Figura 1).

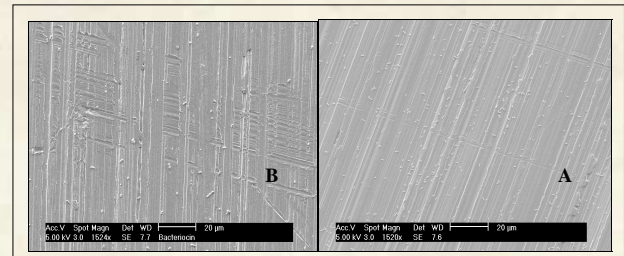


Fig. 1. Micrografía electrónica de barrido(SEM) de la biopelícula de *L. monocytogenes* Scott A en acero inoxidable. Magnificación 1520x. (A) placa control *Listeria* 6 Log. (B) placa con ELC donde se obtuvo una reducción de 3Log.

Conclusiones. Se observó que la producción de bacteriocina fue dependiente de la composición del medio de cultivo. Se demostró en este estudio la efectividad del suero lácteo suplementado de bajo costo, como medio de cultivo para la producción de bacteriocinas. Los resultados fueron muy alentadores e indicaron que el ELC es un candidato prometedor para el control de diferentes *L. monocytogenes*, así como las biopelículas de *L. monocytogenes* Scott A, en superficies de acero inoxidable

Agradecimientos. Al programa TIES-USDA y al CONACYT por la beca a GPG.

Bibliografía.

1. ICMSF 1978. Microorganisms in foods. Their significance and methods of enumeration. *International Commission on Microbiological Specifications for Foods*, 2nd Ed., p. 431, University of Toronto Press, Toronto.
2. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. 1956. Colorimetric Methods for determination of sugars and related substances. *Analyt. Chem.* **28**:3-9.
3. Bhunia A. K., Johnson M. C. and Ray B. 1988. Purification, characterization and antimicrobial spectrum of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*. *J. Appl. Bacteriol.* **65**: 261-268
4. Moltz A. G. y Martin S. E. 2005. Formation of Biofilms by *Listeria monocytogenes* under various growth conditions. *J Food Prot.* **68**:92-97.