

# APLICACION DE METODOLOGIA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA PARA LA DETERMINACION DE OPTIMOS DE CRECIMIENTO DE *Pseudomonas fragi* B-727

Reyna del Carmen Lara Severino\*, Victor José Robles Olvera, Mario Ramirez Lepe, Patricia Mendoza Garcia.  
Instituto Tecnológico de Veracruz, Ver. E-mail: vrobles@itver.edu.mx

**Palabras clave:** superficie de respuesta, velocidad de crecimiento, latencia.

## Introducción.

El desarrollo de los microorganismos depende de las condiciones en las que se encuentren, especialmente la temperatura, el pH y la actividad de agua, entre otros factores<sup>(1)</sup>. Un cambio de temperatura y de pH provoca aumento del tiempo de latencia (L)<sup>(2)</sup> y disminución de la tasa de crecimiento ( $\mu$ ), cuando estos valores se alejan de los valores de temperatura y pH óptimos de crecimiento; el pH afecta el funcionamiento de las enzimas y el transporte de nutrientes dentro de la célula.

Por ello, para la utilización de microorganismos en diferentes campos, es necesario conocer los óptimos de crecimiento. Estos han sido calculados tradicionalmente probando una variable a la vez, lo cual no nos proporciona información acerca de las posibles interacciones entre las variables. Algunos autores<sup>(3, 4, 5)</sup> demostraron que existe efecto de las interacciones entre pH y otros factores sobre el crecimiento de microorganismos, aunque también se ha reportado<sup>(6)</sup> que no existe efecto del pH en el intervalo de 4.6-7.8. Debido a que no se poseen reportes de óptimos de crecimiento de *Pseudomonas* bajo esta metodología y a esta controversia, se ha sugerido el uso de esta metodología para la determinación de óptimos.

## Metodología.

El liofilizado de *Pseudomona fragi* NRRL B-727, se reactivó en caldo carne a pH 7 [peptona (Difco), 10 g/l, glucosa (Difco), 5 g/l, extracto de levadura (Hycel), 5 g/l. Se efectuaron 2 preinóculos incubados a 25°C, el primero en agar inclinado (PCA, Difco) por 24 h y el segundo en caldo carne por 17 h a 150 rpm, pH 7. La cinética de crecimiento se sigue por absorbencia a 600 nm de acuerdo a estudios realizados previamente. Las experiencias se iniciaron a un nivel de inóculo de 0.200 unidades de absorbencia (UA) en un matraz de 500 ml conteniendo 150 ml de caldo carne. Se planteó un diseño de experimentos (cuadrado de lados centrados), teniendo como variables T (°C) y pH, obteniendo los tratamientos que se muestran en la tabla 1. La velocidad de crecimiento [ $\mu$ (1/h)] y latencia [L(h)] para cada condición se calcularon por regresión no lineal.

## Resultados y discusión

### Efecto de la T (°C) y pH sobre la $\mu$

La superficie de respuesta nos muestra que  $\mu$  disminuye a valores extremos de temperatura dentro del intervalo estudiado, lo cual es lógico, sin embargo no se observó un efecto estadísticamente significativo del pH sobre  $\mu$ , contradiciendo datos reportados anteriormente<sup>(7)</sup> para experiencias realizadas a 4°C.

Tabla 1. Definición de los tratamientos experimentales utilizados

TRATA - MIENTO	CONDICIONES	TRATA - MIENTO	CONDICIONES
T1	10°C, pH 4.6	T6	25°C, pH 7.8
T2	10°C, pH 6.2	T7	40°C, pH 4.6
T3	10°C, pH 7.8	T8	40°C, pH 6.2
T4	25°C, pH 4.6	T9	40°C, pH 7.8
T5	25°C, pH 6.2		

### Efecto de la T (°C) y pH sobre la latencia

A valores extremos de temperatura, valores extremos de pH tienen un ligero efecto sobre L, incrementándolo como consecuencia de la adaptación del microorganismo a condiciones poco favorables, coincidiendo aquí con reportes publicados para *Pseudomonas* sp.<sup>(7)</sup>

## Conclusión.

Los resultados obtenidos nos indican que para *Pseudomonas fragi* B-727 el efecto del pH sobre los parámetros de crecimiento es lineal dentro de las condiciones estudiadas y que la temperatura se optimiza a 25°C. No se encontraron efectos sobre  $\mu$  como resultado de las interacciones T – pH; sin embargo, para L, si se observan a valores extremos. Estos resultados no se hubieran detectado siguiendo la metodología tradicional, debido a que en ella se asume que el valor de una variable que maximiza la respuesta es independiente del valor de la otra variable<sup>(8)</sup>; es evidente entonces, la utilidad de esta metodología para la determinación de óptimos de crecimiento.

## Bibliografía.

1. Conner, D. E., Scott, V. N. y Bernard, D. T., 1990. Growth, inhibition, and survival of *Listeria monocytogenes* as affected by acidic conditions. *J. Food Prot.* 53, 652-655.
2. Vasseur, C., Baverel, L., Hebraud, M. y Labadie, J., 1999. Effect of osmotic, alkaline, acid or thermal stresses on the growth and inhibition of *Listeria monocytogenes*. *J. Appl. Microbiol.* 86, 469-476.
3. Graham, A. F., Mason, D. R., Maxwell, F. J. y Peck, M. W., 1997. Effect of pH and NaCl on growth spores of non-proteolytic *Clostridium botulinum* at chill temperature. *Lett. in Appl. Microbiol.* 24, 95-100.
4. Praphailong, W. y Fleet, G. H., 1997. The Effect of pH, sodium chloride, sucrose, sorbate and benzoate on the growth of food spoilage yeasts. *Food Microbiol.* 14, 459-468.
5. Cole, M. B., Jones, M. V. y Holyoak, C., 1990. The effect of pH, salt concentration and temperature on the survival and growth of *Listeria monocytogenes*. *J. Appl. Bacteriol.* 69, 63-72.
6. Neumeyer, K., Ross, T., Thomson, G. y Mcmeekin, T. A., 1997. Validation of a model describing the effects of temperature and water activity on the growth of psychrotrophic pseudomonads. *Int. J. Food Microbiol.* 38, 55-63.
7. Giannuzzi, L., Pinotti, A. y Zaritzky, N., 1997. Modelling of microbial growth in potato homogenate. *J. Sci. Food Agric.*, 73, 425-431.

8. Box, G.; Hunter, W. y Hunter, S. 1985. Estadística para Investigadores.  
Editorial Reverté S. A. México.