**Caracterización genotípica y fenotípica de bacterias lácticas productoras de exopolisacárido aisladas de kéfir**

Bernacchia, J. (1); Dardis, C. (2); Bengoa A.A. (2)

(1) Institución, Dirección, Ciudad, Provincia, País.

(2) Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA, UNLP-CONICET-CIC.PBA), La Plata, Argentina

bengoaagustina@gmail.com

El kefir es una leche fermentada artesanal que se obtiene inoculando leche con gránulos de kefir, estructuras gelatinosas que contienen un consorcio microbiano complejo representado por bacterias acido lácticas, ácido acéticas y levaduras con propiedades probióticas y tecnológicas específicas. Las cepas CIDCA 8339, 83120, 83121, 83123 y 83124 aisladas de gránulos de kefir e identificadas preliminarmente como *Lacticaseibacillus paracasei*, se destacan por ser cepas productoras de exopolisacárido y poseer reconocidas propiedades probióticas. Este género está conformado por especies estrechamente relacionadas como *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*. Considerando las dificultades en la identificación de las especies que integran este género y dado que el Código Alimentario Argentino establece la identificación inequívoca como requisito para la aplicación de cepas probióticas en productos comerciales, resulta relevante profundizar la caracterización genotípica y fenotípica para asegurar la correcta identificación a nivel especie. El objetivo del presente trabajo es complementar la clasificación taxonómica de cepas productoras de polisacárido pertenecientes a la colección CIDCA para su aplicación en una novedosa bebida fermentada a base de almendras. Para ello, se llevó a cabo la extracción de ADN de las 5 cepas mencionadas utilizando un kit comercial. Se amplificó la región V3 del gen que codifica para el ARNr 16S (*primers* 518R/338FGC) y los productos obtenidos se analizaron mediante DGGE (urea-formamida 40%-60%). Se amplificó una región del gen fenilalanina sintasa (*pheS*) con los *primers* PheS21F/23R y el fragmento amplificado se purificó y secuenció. Las secuencias fueron analizadas mediante la construcción de un árbol filogenético utilizando secuencias de *L. casei* y *L. paracasei* de la base de datos NCBI. Se evaluó el perfil de fermentación de azúcares utilizando el sistema de identificación API 50CHL. Luego, se obtuvieron bebidas fermentadas a base de almendras (24h 30ºC) adicionadas o no con glucosa 1% p/v y se determinó el pH, número de viables en agar MRS y viscosidad aparente mediante viscosimetría rotacional con cilindros concéntricos. En el análisis mediante DGGE se evidenció que todas las cepas CIDCA dieron lugar a una banda coincidente con las bandas obtenidas para las cepas *L. casei* DSMZ 20011 y *L. paracasei* ATCC 27092 y ATCC 27139, por lo que esta técnica no permitió diferenciar ambas especies*.* Por el contrario, la secuenciación de una región de *pheS* permitió identificar a todas las cepas CIDCA como *L. paracasei,* resultados que concuerdan conel análisis del perfil de fermentación de azúcares. Las cepas CIDCA 8339 y 83124 inoculadas en la bebida de almendra sin glucosa agregada mostraron un leve crecimiento de entre 0,5-0,6 log, sin cambios significativos en pH y viscosidad. Sin embargo, el agregado de glucosa dio lugar a un mayor crecimiento de los probióticos (1,2-1,5 log), alcanzando valores de pH de 3,5. Además, la cepa CIDCA 83124 aumentó significativamente la viscosidad de la bebida (8,4±0,59 mPas.s) respecto al control (3,5±1,03 mPas.s). Estos resultados permitieron concluir que las cepas de la colección CIDCA pertenecen a la especie *L. paracasei* y podrían ser aplicadas para el desarrollo de bebidas fermentadas a base de almendras con potencialidad probiótica.

Palabras Clave: *Lacticaseibacillus paracasei*, probióticos, identificación taxonómica, bebida a base de almendras