**Validación de un diseño de medios de cultivo para la producción de bacteriocinas con actividad anti- *Listeria monocytogenes***

Guitián MV (1), Giordano PC (2), Audisio, MC (1,3,4), Ibarguren, C (1,5)

(1) Instituto de Investigaciones para la Industria Química (INIQUI-CONICET-UNSa), Av. Bolivia 5150, Salta Capital, Salta, Argentina.

(2) Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (FBCB-UNL-CONICET) Ciudad Universitaria, Km 0, 3000, RN168, Santa Fe, Argentina.

(3) Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de Salta, Av. Bolivia 5150, Salta Capital, Salta, Argentina.

(4) Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de Salta, Av. Bolivia 5150, Salta Capital, Salta, Argentina.

(5) Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Salta, Av. Bolivia 5150, Salta Capital, Salta, Argentina.

Dirección de e-mail: vickyguitian@gmail.com

RESUMEN

La producción de bacteriocinas, péptidos antimicrobianos sintetizados por bacterias lácticas con potencial como biopreservantes de alimentos, es poco rentable por el elevado costo de los medios sintéticos utilizados para el crecimiento de los microorganismos productores. Por este motivo, es primordial disponer de medios de bajo costo, que además sean formulados con sustratos de grado alimenticio, para asegurar una mejor aceptación legal. El objetivo del presente trabajo fue seleccionar un medio de cultivo alternativo, formulado con sustratos de grado alimenticio, para la producción de bacteriocinas de la cepa *Enterococcus avium* DSMZ17511, con el fin de obtener preparados de bacteriocinas con potencial aplicación como biopreservantes de alimentos. Se probaron como sustratos: Harina de soja (HS), Harina de quinoa (HQ), Levadura de cerveza deshidratada (LC) y Suero de queso deshidratado (SQ), mediante un diseño central compuesto, en donde cada factor (sustrato) se probó en concentraciones entre 0-3 % m/V; y la variable respuesta del ensayo fue el diámetro del halo de inhibición (mm). Se utilizó caldo BHI como medio de cultivo control. La cepa productora de bacteriocinas se inoculó en cada medio y se incubó a 37 °C durante 20 h. Luego se recuperó el sobrenadante libre de células (SLC) y se determinó la actividad antimicrobiana, usando la cepa indicadora *L. monocytogenes* 99/287, mediante la técnica de difusión en agar. Los ensayos se realizaron por duplicado. Los SLC de todas las combinaciones probadas presentaron actividad antimicrobiana. Los datos de las dimensiones de los halos de inhibición obtenidos se procesaron en el software MINITAB 14. Este análisis estadístico mostró que el modelo que mejor se ajustó fue el cúbico. El R2 (coeficiente de determinación) (0,95) y el R2 ajustado del ensayo (0,86) fueron adecuados. El modelo obtenido determinó que los efectos lineales, cuadráticos y la mayoría de las interacciones de los 4 factores eran significativo. Los efectos fueron mayormente positivos, sin embargo, tanto HS, LC y SQ tuvieron efectos cuadráticos negativos. En base a estos resultados se aplicó la función deseabilidad con las condiciones de que todos los factores se mantengan en el rango 0-3 % m/V y que se minimice la concentración de HQ ya que es el sustrato de mayor valor. El resultado de esta aplicación fue la obtención de 7 formulaciones óptimas del medio de cultivo. Posteriormente las 7 formulaciones fueron desarrolladas experimentalmente observándose que los diámetros predichos y los obtenidos experimentalmente eran concordantes siendo la formulación que presentó el menor error aquella que contenía la siguiente composición 1,41 % m/V HS; 0,54 % m/V LC; 3,00 % m/V SQ. Es decir, la HQ puede omitirse en la formulación del medio, reemplazándose completamente por el SQ, ya que demostraron una relación muy fuerte entre sí. A pesar que ninguna de estas opciones alcanza la actividad antimicrobiana observada con el medio comercial BHI, se logra la obtención de SLC con actividad antimicrobiana adecuada para su aplicación en preservación de alimentos, en medios de cultivos de grado alimenticio y con costo significativamente menor al medio comercial BHI.

Palabras Clave: bacteriocinas, medios de cultivo, *Listeria monocytogenes*