**Evaluación de actividades ramnosidasa y glucosidasa de cultivos mixtos de bacterias lácticas involucradas en la producción de compuestos bioactivos**

Velasco Manini MA, Sandez Penidez SH, Gerez CL, Rollán GC

Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA) – CONICET. Batalla de Chacabuco 145, San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina. mvelasco@cerela.org.ar

Los seudocereales son importantes fuentes de flavonoides, compuestos polifenólicos de interés debido a sus efectos antiinflamatorios y antioxidantes, entre otros. Los flavonoides suelen presentarse en los vegetales en su forma glucosilada, lo cual limita su actividad biológica. Para potenciar su actividad, es necesaria la bioconversión enzimática en su forma activa. Las bacterias lácticas (BL) son un grupo de microorganismos de importancia en la industria de los alimentos fermentados y son una potencial fuente de enzimas. En trabajos previos, 16 cepas de BL aisladas de masas ácidas y granos de quinoa y amaranto fueron capaces de crecer en medio con rutina (ramnoglucósido) y liberar quercetina (flavonoide activo). Entre estas cepas, *Lactiplantibacillus* *plantarum* CRL2106 (Lp-CRL2106) mostró alta actividad ramnosidasa, mientras que *Lacticaseibacillus* *rhamnosus* CRL2091 (Lr-CRL2091) y *Leuconostoc* *mesenteroides* CRL2132 (Lm-CRL2132) evidenciaron alta actividad glucosidasa en ensayos *in vitro*. Ambas enzimas están relacionadas con el metabolismo de la rutina. El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de cultivos mixtos de las cepas seleccionadas sobre las actividades ramnosidasa y glucosidasa y la producción de quercetina. Los ensayos de compatibilidad entre cepas se evaluaron en placas de medio MRS con ramnosa (MRSmr) agar. En mono y co-cultivos se determinó crecimiento (recuento en placa diferencial), acidificación (pH), actividades ramnosidasa y glucosidasa evaluadas por métodos colorimétricos empleando como sustratos *p*-nitrofenil- glucopiranósido y *p*-nitrofenil- ramnopiranósido. La ausencia de halos de inhibición en placas de agar de MRSmr puso en evidencia la compatibilidad entre las cepas Lp-CRL2106/Lm-CRL2132 y Lp-CRL2106/Lr-CRL2091. En co-cultivos, las BL evaluadas mostraron diferentes cinéticas de crecimiento respecto a los mono-cultivos. En co-cultivos Lp-CRL2106/Lm-CRL2132, ambas cepas mostraron menor crecimiento (1.4 y 0.7 unid. log UFC/ml, respectivamente) comparado con sus monocultivos (≥ 2 unid. log UFC/ml). Contrariamente, el predominio del crecimiento de Lp-CRL2106 sobre Lr-CRL2091 nos llevó a no continuar los estudios con este cocultivo. En mono y co-cultivos, la acidificación fue similar (pH final 5.2 – 5.5) a excepción del monocultivo Lr-CRL2091 (pH final 4.7). Las actividades ramnosidasa y glucosidasa fueron menores (35.9% y 39.6%, respectivamente) en el co-cultivo Lp-CRL2106/Lm-CRL2132 respecto a los monocultivos. Asimismo, se evaluó el efecto del agregado de rutina en el medio de crecimiento MRSmr de Lp-CRL2106/Lm-CRL2132 sobre la producción de quercetina. La concentración de quercetina producida (1.89 – 1.95 µg/ml) por el co-cultivo fue similar al mono-cultivo Lp-CRL2106. Los resultados obtenidos evidenciaron que los cultivos mixtos y la complementación de las actividades ramnosidasa y glucosidasa de las BL evaluadas, no tuvieron el efecto sinérgico esperado en la bioconversión de rutina en quercetina en medios de cultivo. En base a estos resultados, Lp-CRL2106 podría ser empleada como starter mono-cepa en la preparación de alimentos funcionales fermentados a base de quinoa y/o amaranto para mejorar la biodisponibilidad de compuestos fenólicos ramnoglicosilados.

Palabras Claves: bacterias lácticas, flavonoides, ramnosidasa, quercetina.