

DESARROLLO DE MEDIO DE CULTIVO PARA PROLIFERACIÓN DE LEVADURAS VÍNICAS

R. Neuilly⁽¹⁾, M. Della Vecchia⁽¹⁾, M. Bertolo⁽¹⁾

rneuilly@inti.gob.ar

⁽¹⁾ Dto. Servicios Analíticos Cuyo-DT Alimentos Cuyo-SORCuyo-GOAR-INTI

Palabras Clave: Medio de cultivo; levaduras; biorreactores; biorreactor

INTRODUCCIÓN

El desafío de lograr la sustitución de importaciones y el de generar riqueza en la cadena de valor de la industria vitivinícola, hace de gran impacto tecnológico la creación de consumibles que puedan ser manufacturados y comercializados a nivel local y comercializar insumos de origen nacional que sean de calidad y que cumplan con los requerimientos de estándares internacionales demandados por la industria vitivinícola.

Nuestros laboratorios tienen la capacidad de desarrollar medios de cultivos que cumplan con características específicamente solicitadas por el cliente, en nuestro caso un proveedor local de insumos vitivinícolas que desea convertirse en productor de un medio de cultivo para la propagación de levaduras vínicas.

OBJETIVOS

Desarrollar un medio de cultivo a escala de laboratorio, que cumpla con el criterio de productividad comparable con un medio de cultivo de origen importado y evaluar si existen diferencias significativas entre ambos.

Evaluar la productividad del medio de cultivo diseñado a escala de laboratorio, pero producido a escala industrial por la empresa solicitante, utilizando biorreactores, que funcionan en establecimientos vitivinícolas, destinados a la propagación de levaduras vínicas.

DESARROLLO

En una primera etapa, se analizó un medio de cultivo de origen importado, con la finalidad de ser caracterizado en sus parámetros fundamentales, como ser contenido de hidratos de carbono, pH, nitrógeno total, amínico y amoniacal. También se tuvieron en cuenta otros parámetros secundarios, como la formación de espuma, capacidad reguladora de pH, humectación, dispersión y solubilidad del producto formulado.

En una segunda etapa, se formularon dos candidatos de medios de cultivo (a escala laboratorio) para el crecimiento de levaduras, utilizando combinaciones de diferentes ingredientes presentados por la empresa solicitante. La formulación de los candidatos se diseñó considerando los requerimientos nutricionales del crecimiento de levaduras.

Se inocularon el medio de referencia y las diferentes formulaciones con levadura vínica comercial *Sacharomyces cerevisiae* proporcionada por la empresa. Las muestras fueron incubadas a 28 °C durante 5 días. Durante el tiempo de incubación se observó visualmente el aumento de turbidez, haciéndose notorio a partir del día 4 para todas las muestras ensayadas. El día 5 de incubación se realizó el recuento y se realizó la comparación entre los medios estudiados.

En una tercera etapa se determinó la productividad del medio de cultivo de formulación 2 desarrollada por nuestro departamento de servicios analíticos, cuyo nombre de comercialización fue registrado en el INPI (Instituto Nacional de Propiedad intelectual) por la empresa y se comparó con un medio de cultivo que se comercializa en el mercado de origen extranjero. El ensayo se realizó en campo, utilizando un biorreactor de una importante bodega de la zona metropolitana de Mendoza.

Durante la realización del ensayo de propagación en biorreactor, en ambos casos, se mantuvieron todos los parámetros constantes, para que de esta manera la única diferencia entre los dos ensayos fuera la utilización del medio de cultivo.

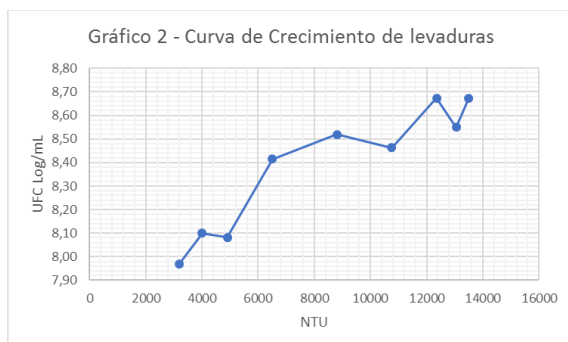
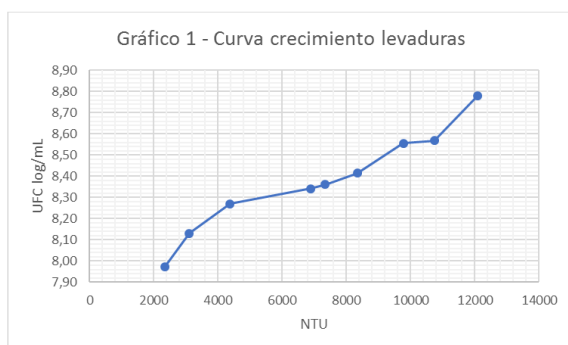
Se tomó una muestra cada dos horas, tomando como inicial el tiempo cero, al momento del inóculo de las levaduras deshidratadas. Posteriormente, en el periodo establecido, se realizó la toma de muestra de producto inoculado al cual se le realizaron las siguientes determinaciones: Determinación de turbidez y

productividad. Se realizó la valoración de cada una de las muestras cada dos horas.

RESULTADOS

Los resultados de la segunda etapa del desarrollo fueron altamente satisfactorios obteniéndose en cada formulación propuesta una productividad superior a 0.7, teniendo en cuenta el valor de referencia de la ISO 11133:2014.

Para la tercera etapa, el estudio consistió en la construcción de curvas de crecimiento de levaduras en biorreactores, utilizando dos medios de cultivo, El Gráfico N°1 es el correspondiente al medio de cultivo desarrollado por nuestro laboratorio en conjunto con el cliente y el Gráfico N°2 es la correspondiente al medio de cultivo comercial (testigo).



La productividad, se realizó calculando la relación del valor UFC log/ml del medio desarrollado respecto del valor de UFC log/ml del medio "Testigo", Según la siguiente tabla.

Toma de muestra	UFC log/ml (Testigo)	UFC log/ml	Productividad
Inicial	7,97	7,97	1,00
2 horas	8,10	8,13	1,00
4 horas	8,08	8,27	1,02
6 horas	8,41	8,34	0,99
8 horas	8,52	8,36	0,98
10 horas	8,46	8,41	0,99
12 horas	8,67	8,56	0,99
14 horas	8,55	8,57	1,00
16 horas	8,67	8,78	1,01

Tabla 1: Productividad del medio desarrollado.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Para el ensayo de productividad establecido en la etapa número dos, se puede observar que tanto la fórmula del producto utilizado como testigo (importado) como así también las propuestas por nuestro laboratorio (fórmula 2 y 3) cumplen con los parámetros establecidos en la norma de ISO 11133:2014 (E), cuyo valor de referencia es que la productividad sea mayor a 0.5.

Teniendo en cuenta esto, se decidió utilizar para futuros ensayos la formulación n°2 debido a que cumple con la mayor productividad y el costo beneficio del cliente por los componentes utilizados.

De los resultados obtenidos se puede evidenciar que, la efectividad de propagación de levaduras en los medios de cultivo comparados no presenta diferencias significativas (con un nivel de confianza de 95%); observándose que en ambos casos se obtuvo un límite del orden de 10^8 UFC/mL y un mismo comportamiento de la tendencia de crecimiento.

El medio de cultivo desarrollado presenta una productividad aceptable, con un valor superior a 0.9 en cada uno de los puntos analizados; tomando como criterio de aceptación un valor superior a 0.5, referenciando el valor establecido en la norma ISO 11133:2014 (E) para medios de cultivo de recuento no selectivo de microorganismos.

Tomando en consideración las evidencias detalladas anteriormente, sería importante mencionar, que este producto es una alternativa comercial de gran impacto industrial; ya que, obedece a la consigna de la sustitución directa de importaciones de productos terminados, agregando valor a un producto que será de industria nacional.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la empresa Enoandes S.A. por su iniciativa, el acompañamiento, la predisposición y la confianza brindada en todo el proceso del desarrollo de éste trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ISO 11133. "Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media" – International Organization for Standardization, 2014.r
- [2] Downes, F.P., Keith, I. "Capítulo 20". En: "Compendium of methods for the microbiological examination of foods". American Public Health Association", Washington, DC, 2001, pág. 209 – 213.