

PAQ-8

EFFECTO DE LA QUITOSANA SOBRE EL CRECIMIENTO DE *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces intermedius* y *Saccharomyces cerevisiae*

H. Leticia Gómez-Rivas, Blanca Escudero-Abarca*, Guadalupe Aguilar-Uscanga y Patricia Mendoza. Instituto Tecnológico de Veracruz. Unidad de Investigación en Alimentos (UNIDA). Miguel Angel de Quevedo 2779 Col. Formando Hogar. C.P. 91860. Veracruz, Ver.

escudero@itver.edu.mx

La quitosana es un aminopolisacárido catiónico formado por unidades de glucosamina. Es una sustancia no tóxica y biodegradable. La presencia de grupos amino libres hacen que sea muy activa biológicamente, como es el caso de su actividad antimicrobiana. Se obtiene por desacetilación de la quitina y forma parte de la pared celular de algunos hongos y levaduras (Shahidi *et al* 1999).

La creciente demanda de consumo de alimentos sin conservadores químicos, ha despertado el interés en el descubrimiento de nuevos antimicrobianos naturales, así se ha demostrado la actividad antimicrobiana de la quitosana sobre un gran número de microorganismos (Roller y Covill, 2000). Sin embargo, aun queda sin conocerse su acción sobre contaminantes de interés industrial, tal es el caso de *Brettanomyces*, una levadura que contamina la fermentación alcohólica, la cual es muy difícil de eliminar.

Por lo anterior, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la quitosana sobre *S. cerevisiae* (la levadura que lleva a cabo la fermentación alcohólica), *Brettanomyces intermedius* y *Brettanomyces bruxellensis* (potentes contaminantes en destilerías y bebidas alcohólicas) con la finalidad de encontrar concentraciones de quitosana que inhibieran el crecimiento de *Brettanomyces* sin afectar el crecimiento de *S. cerevisiae*.

El desarrollo del trabajo se llevó al cabo en tres etapas. En la primera se evaluó el efecto de la quitosana en su estado natural y solubilizada en ácido acético sobre la cepa de *S.cerevisiae*, para determinar la forma de aplicación de la quitosana en el medio de cultivo. Posteriormente se evaluó el efecto de la concentración de quitosana (0.5,1,2,3,4,5 y 6 g/l) sobre cada una de las levaduras independientemente, y por último, se probaron concentraciones de quitosana (2,3 y 6 g/l) sobre cultivos mixtos que incluyeron: *S.cerevisiae* y *B. intermedius* y *S.cerevisiae* y *B. bruxellensis*. El efecto de la quitosana sobre el crecimiento se determinó mediante el método de Bonora (Bonora y Mares, 1982) que utiliza azul de metileno y la cámara de Thoma y la concentración de glucosa

en el medio se midió por el método de DNS. Se utilizó un medio de cultivo sintético (Aguilar, 1999) a pH 4.5. Las condiciones para el crecimiento de los microorganismos fueron: temperatura 30°C, agitación de 250 rpm, y un inóculo de 3×10^5 células/ml.

Los resultados demostraron que al utilizar quitosana disuelta en ácido acético, se presentó un efecto sinérgico de ambos componentes sobre el crecimiento de *S. cerevisiae*, por lo que se tomó la decisión de aplicar la quitosana en su forma natural para evaluar el efecto real de ésta. La quitosana alargó los tiempos de fase de latencia en ambas cepas de *Brettanomyces*, siendo de 170 h en *B. intermedius* con 2 g/l de quitosana (figura 1), y 80 h en *B. bruxellensis* con 6 g/l de quitosana, siendo más sensible *B. intermedius*. Para el caso de *S. cerevisiae* se observó una tendencia a disminuir la velocidad de crecimiento que fue inversamente proporcional a la concentración de quitosana, presentando una disminución de 50% en la velocidad de crecimiento con 6 g/l del polisacárido. Un resultado colateral interesante fue que la presencia de quitosana aceleró el consumo de glucosa en las cinéticas mixtas de 120 a 60 h según la concentración adicionada.

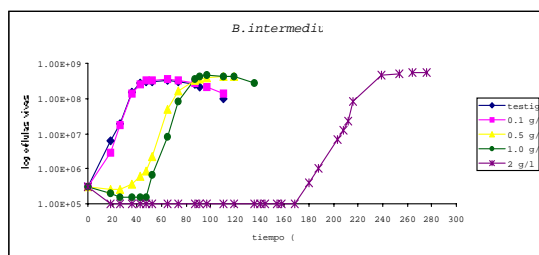


Figura 1. Efecto de quitosana sobre *B. intermedius*

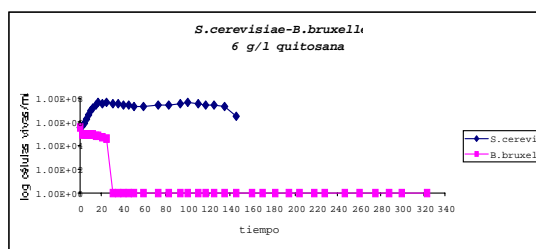


Figura 2. Crecimiento de *B. bruxellensis* con 6 g/l de quitosana en un cultivo mixto con *S. cerevisiae*

Las dos especies de *Brettanomyces* fueron inhibidas sin detener el crecimiento de *S. cerevisiae*, para *B. intermedius* fueron necesarios 3 g/l de quitosana y para *B. bruxellensis* se necesitaron 6g/ (figura 2), con lo que se concluye que es factible el control del crecimiento de *Brettanomyces*, en presencia de *S. cerevisiae*, utilizando quitosana.

- Aguilar, U.G., Delia, M., Strehaiano, P.,(1999): Estudio cinético sobre el crecimiento de *Brettanomyces bruxellensis* en glucosa a diferentes concentraciones iniciales de ácido acético. Microbiologie-Aliments-Nutrition, 17, 181-190
- Bonora, A, Mares D.A (1982) simple colorimetric method for detecting cell viability in cultures of eucaryotic microorganisms.Current Microbiol., , 7,217-222
- Roller , S.,Covill,N. (2000) The antimicrobial properties of chitosan in mayonnaise-based shrimp salads 63 (2) 202-209
- Shahidi, F,Arachchi,V.J.K. (1999), Food applications of chitin and chitosans. Trends in Food Science and Technology.10, 32-51