

Impacto tecnológico y económico de medios de cultivo con factibilidad de aplicarse en la producción de inoculantes para silos de maíz

Blajman, J.E.¹; Páez, R.B.²; Massera, A.F.²; Cuatrin, A.²; Lingua, M.S.³; Ferrari, S.²; Vinderola, C.G.⁴

¹Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Rafaela (CONICET-INTA).

²Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, EEA Rafaela (INTA).

³Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos Córdoba (ICYTAC, UNC-CONICET).

⁴Instituto de Lactología Industrial (INLAIN, UNL-CONICET).

jblajman@yahoo.com.ar

En nuestro país, el empleo de inoculantes para silos muestra un crecimiento sostenido y parece no detenerse. En sintonía con una tendencia mundial, cada año aumenta la tasa de productores argentinos que incorpora el empleo de inoculantes a sus silos. El uso de estos productos permite controlar y dirigir la fermentación microbiana favoreciendo la rápida disminución del pH, lo que evita la proliferación de microorganismos indeseables (clostridios, hongos y levaduras), la producción de nitrógeno amoniacal, ácido butírico y micotoxinas. Todo esto redundará en una mayor calidad del alimento, mayor estabilidad aeróbica una vez abierto el silo y una mayor receptibilidad por parte del ganado¹. A pesar del intensivo y creciente empleo de inoculantes en base a bacterias ácido lácticas (BAL), la mayoría de los productos disponibles en el mercado argentino provienen del exterior. Es entonces factible que un producto 100% nacional sea bienvenido por el productor agropecuario, si el producto logra ser competitivo desde el punto de vista del costo y de la funcionalidad. Para la producción de biomasa de cepas de BAL, es posible la simplificación en cantidad y concentración de nutrientes de medios de cultivo comerciales² o la utilización de permeado de suero³. Debido a lo expuesto anteriormente, el objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de desarrollo de tres cepas autóctonas con potencial para formar parte de un inoculante para silos de maíz (*L. plantarum* Ls71, *P. acidilactici* Ls72 y *L. buchneri* Ls141) en diferentes medios de cultivo, y confeccionar un análisis de costos de los mismos.

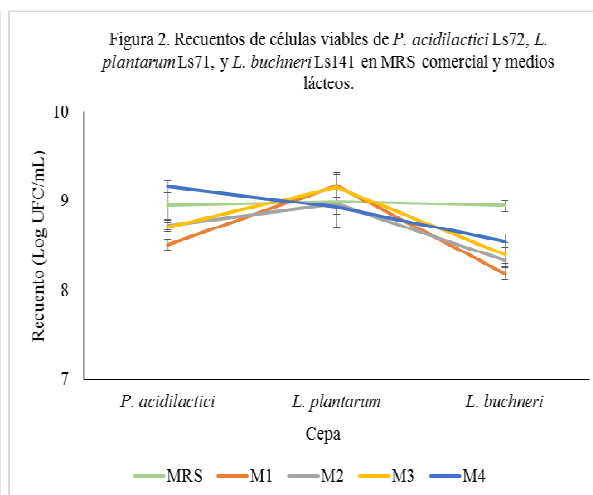
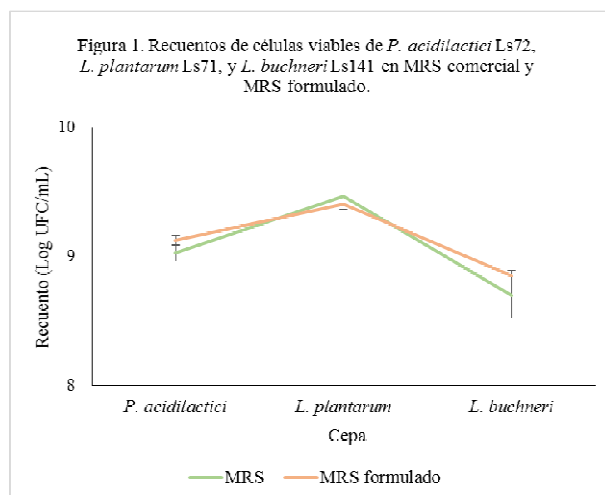
Se utilizaron dos tipos de medios para el crecimiento individual de cada una de las cepas: sintético y lácteo. El medio sintético se preparó como una versión simplificada del medio de cultivo comercial MRS, llamado de aquí en adelante medio de cultivo formulado. Para el mismo se emplearon ingredientes de origen nacional y de calidad industrial (Cicarelli, Microquin), trabajando en la reducción de aquellos que mayor impacto tienen sobre el costo del medio de cultivo, hasta niveles que aseguren la adecuada producción de biomasa. En cuanto a los medios lácteos, el permeado de suero en polvo fue proporcionado por la empresa Arla Foods Ingredients (Porteña, Córdoba, Argentina), al cual se le adicionaron aditivos en diferentes porcentajes. Los medios de cultivo empleados se enumeran a continuación: (M1) permeado de suero de queso en polvo al 9% (p/v) suplementado con 2,5 g/L de extracto de levadura, 2,5 g/L de peptona de carne, 5 ml/L de solución de Mg-Mn y 0,5 g/L de cisteína; (M2) M1 con el doble de extracto de levadura; (M3) M1 con el doble de peptona de carne; (M4) M1 con el doble de extracto de levadura y peptona de carne; (M5) caldo MRS formulado conteniendo 10 g/L de pluripeptona, 10 g/L de extracto de carne, 5 g/L de extracto de levadura, 20 g/L de glucosa, 1,08 ml/L de Tween 80, 2 g/L de K₂HPO₄, 5 g/L de acetato de sodio, 2 g/L de citrato de amonio, 0,2 g/L de SO₄Mg, 0,05 de SO₄Mn y 0,5 g/L de cisteína; (M6) caldo MRS comercial (Acumedia, Lansing, USA), siendo este último el medio de referencia para el desarrollo de *Lactobacillus* spp.

Las cepas en estudio se reactivaron a partir de los stocks congelados y se realizaron dos repiques sucesivos en caldo MRS previo a su utilización. Las suspensiones celulares fueron inoculadas al 1% (v/v), con excepción de *L. buchneri* Ls141 en medios lácteos, que fue inoculada al 10% (v/v). Los recuentos de células viables se realizaron en agar MRS en superficie. Los resultados de los recuentos

de células viables se transformaron a log UFC/mL y se expresaron como media \pm desviación standard, de al menos tres experimentos independientes en cada ensayo. El análisis estadístico fue ejecutado mediante el programa INFOSTAT, implementándose ANOVA y Test de Tukey. Paralelamente, se efectuó un análisis de costos de todos los medios empleados.

La producción de biomasa de las tres cepas fue similar en MRS formulado y MRS comercial ($p > 0,05$) (Figura 1). En relación al crecimiento en MRS comercial y medios lácteos, el comportamiento de las cepas fue diferente según el medio, observándose una interacción medio de cultivo - cepa que fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$). Los cinco medios lácteos evaluados fueron tan eficaces como el MRS comercial para el desarrollo de *L. plantarum* Ls71 ($p > 0,05$). En tanto, el mayor crecimiento de *P. acidilactici* Ls72 se observó en M4 y MRS comercial. Sin embargo, *L. buchneri* Ls141 no logró en medios lácteos un desarrollo comparable al obtenido en MRS comercial ($p < 0,05$) (Figura 2). El análisis económico permitió determinar que el costo del MRS formulado fue de aproximadamente un sexto respecto al MRS comercial (2,5 USD/L vs. 14,6 USD/L), mientras que el costo de los medios lácteos fue dos veces inferior al del medio formulado (0,9 USD/L vs. 2,5 USD/L).

Teniendo en cuenta la posibilidad de producción a escala industrial de estas cepas en el futuro, el medio formulado fue una alternativa eficiente y económica al MRS para la producción de biomasa de este inóculo multicepa.



Bibliografía

- Hassanat, F.; Mustafa, A.F.; Seguin, P. (2007). Effects of inoculation on ensiling characteristics, chemical composition and aerobic stability of regular and brown midrib millet silages. *Animal Feed Science and Technology*, 139, 125-140.
- Lavari, L.; Páez, R.; Cuatrin, A.; Reinheimer, J.; Vinderola, G. (2014). Use of cheese whey for biomass production and spray drying of probiotic lactobacilli. *Journal of Dairy Research*, 81(3), 267-74.
- Lavari, L.; Ianello, R.; Páez, R.B.; Zotta, T.; Cuatrin, A.L.; Reinheimer, J.; Parente, E.; Vinderola, G. (2015). Growth of *Lactobacillus rhamnosus* 64 in whey permeate and study of the effect of mild stresses on survival to spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, 63(1), 322-330.