

Extracto de lúpulo para el control de la contaminación bacteriana en la fermentación para producción de bioetanol

A. Castagnaro¹, A. Canseco¹, L. Vera², R. M. Ruiz¹, B. Welin²
¹EEOC, Sección Química - Lab. Microbiología; ²ITANO (EEOC-CONICET), Tucumán, Argentina

✉ anacastagnaro@eeoc.org.ar



I T A N O A

INTRODUCCIÓN

En la producción industrial de bioetanol, la contaminación bacteriana es uno de los principales factores que comprometen el rendimiento de fermentación. Las bacterias del ácido láctico (BALs) presentes en los fermentadores, no solo compiten con *Saccharomyces cerevisiae* por el sustrato, sino que también segregan compuestos tóxicos como el ácido láctico, que puede suprimir las actividades fermentativas de la levadura (Walker & Basso, 2020). En Tucumán, para su control, se emplean principalmente antibióticos como penicilina, cuyo uso inadecuado y/o exceso, contribuyen al desarrollo de resistencia bacteriana. Las plantas sintetizan compuestos bioactivos naturales, cuyo potencial ofrece alternativas prometedoras (Rodino *et al.*, 2014). El lúpulo (*Humulus lupulus* L.) contiene compuestos bioactivos con reconocida actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram-positivas, que pueden ser aprovechados como alternativa a los antibióticos en fermentaciones industriales. Su acción selectiva y mecanismo sobre la membrana bacteriana, junto a su bajo impacto ambiental, lo posicionan como un candidato promotor.

OBJETIVO

Desarrollar un extracto de lúpulo (EELU) con actividad antimicrobiana frente a BALs resistentes a penicilina, y evaluar su efectividad como alternativa natural para el control bacteriano en la producción de bioetanol.

RESULTADOS

El extracto EELU₆₀ (etanol 60%) mostró la mayor actividad antibacteriana, con halos promedio de 19,6 mm (Figura 1), asociado a su mayor contenido de compuestos fenólicos (59,2 mg EAG/g) (Datos no mostrados).

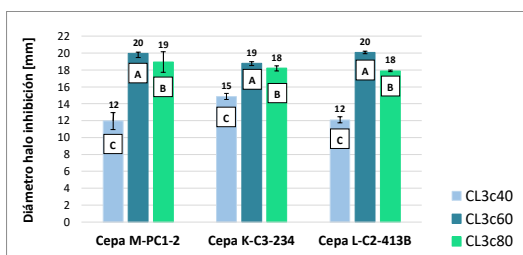


Figura 1. Efecto inhibitorio de las tres formulaciones de extracto etanólico de lúpulo, sobre las cepas bacterianas aisladas, resistentes a penicilina G sódica. CL3c40, CL3c60 y CL3c80: extractos con solución hidroalcohólica de 40°, 60° y 80°, respectivamente. Datos correspondientes a una concentración sembrada de 50 mg de PS/mL.

Las CIM variaron entre 150 y 350 ppm, dependiendo de la cepa y mostrando actividad bacteriostática. La cepa más resistente L-C2-413B solo fue inhibida parcialmente. No se observó inhibición sobre *S. cerevisiae*. (Figura 2)

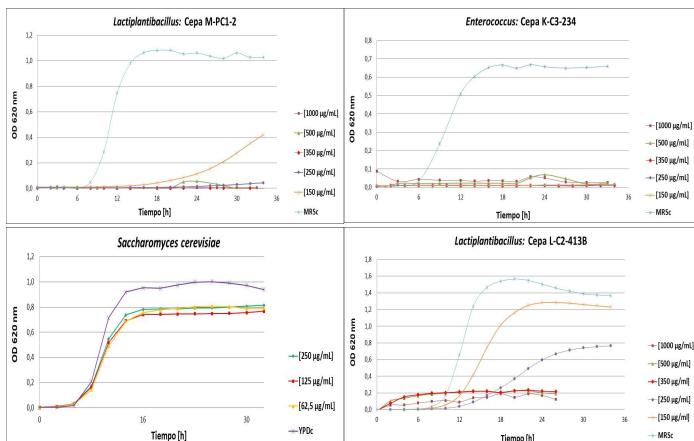


Figura 2. Determinación de la CIM del EELU₆₀ mediante la medición del crecimiento bacteriano en MRS, con incubación a 30°C y el crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, en medio YPD a 30°C.

MATERIALES Y MÉTODOS

- Preparación de extractos y cuantificación de compuestos fenólicos totales (CFT):** Se elaboraron extractos hidroalcohólicos de lúpulo cv. Cascade, con 40°, 60° y 80° de etanol, mediante maceración asistida con ultrasonido. La CFT se realizó por espectrofotometría utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu.
- Determinación de actividad antimicrobiana de los extractos:** Se llevó a cabo mediante ensayo de difusión en agar, partiendo de extractos liofilizados hasta peso seco (PS), frente a 3 BALs resistentes a penicilina: M-PC1-2 y L-C2-413B correspondientes a cepas de *Lactiplantibacillus* y K-C3-234, *Enterococcus*.
- Estudios de concentración inhibitoria mínima (CIM):** combinando métodos de microdilución en medio líquido, con estudios de cinéticas de crecimiento.
- Ensayos de fermentación a escala laboratorio:** utilizando como sustrato melaza diluida al 20% de ART. Volumen final de fermentación 90 mL. Se cuantificó carga bacteriana mediante recuento en placa y ácido láctico utilizando un Test enzimático.

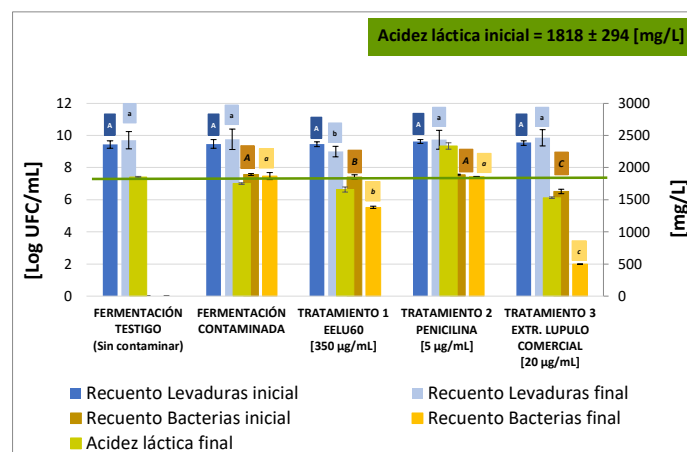


Figura 3. Comparación del efecto de diferentes tratamientos en el control de la contaminación bacteriana y en el control de la producción de ácido láctico, en fermentaciones de laboratorio. Los ensayos fueron contaminados con inóculo mixto de tres cepas resistentes a penicilina, en un orden de 7,5 Log UFC/mL; y luego se aplicó cada tratamiento antibacteriano. Se hizo comparación de medias dentro de cada variable. Letras iguales no presentan diferencias significativas.

CONCLUSIÓN

El extracto EELU₆₀ mostró actividad selectiva frente a las cepas de BALs resistentes a penicilina, sin afectar el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*. Su uso permitió reducir significativamente la carga bacteriana y la formación de ácido láctico. Estos resultados sugieren que tiene potencial como alternativa natural eficaz complementaria al uso de antibióticos en la industria del bioetanol.

BIBLIOGRAFÍA

- Rodino, S., Butu, A., Negoescu, C., Petrache, P., Condei, R., Nicolae, I., & Cornea, C. P. (2014). Antimicrobial activity of *Humulus lupulus* extract. *Journal of Biotechnology*, 185, S66. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.07.222>
- Walker, G. M., & Basso, T. O. (2020). Mitigating stress in industrial yeasts. *Fungal Biology*, 124(5), 387-397. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.10.010>