

ISSN On-Line: 2250-8872

Número XXXVII  
Año 21 - 2021



# CIENCIAS AGRONÓMICAS

REVISTA DE INVESTIGACIONES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS - UNR



Facultad de Ciencias Agrarias - Universidad Nacional de Rosario  
Campo Experimental Villarino C.C. Nro. 14 (S 2125 ZAA) - Zavalla - Santa Fe - Argentina  
Telefax 0341 - 4970080 - 085 - agro@unr.edu.ar - <https://fcagr.unr.edu.ar/>

[cienciasagronomicas@unr.edu.ar](mailto:cienciasagronomicas@unr.edu.ar)



**UNR** Universidad  
Nacional de Rosario

21 al 25 junio 2021

>JCT<



VI Jornadas de Ciencia y Tecnología  
de la Facultad de Ciencias Agrarias  
Universidad Nacional de Rosario

# LIBRO DE RESÚMENES 2021



Facultad de Ciencias Agrarias  
UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO



Santa Fe  
Provincia

## Influencia de ondas de ultrasonido en la culturabilidad, viabilidad, arquitectura celular, actividad enzimática y potencial metabólico de *Lacticaseibacillus paracasei* 90

Guillermo Hugo Peralta<sup>1,2</sup>, María D. Milagros Bürgi<sup>3</sup>, Luciano J. Martínez<sup>4</sup>, Virginia H. Albarracín<sup>4</sup>, Irma Verónica Wolf<sup>1</sup>, Adrián A. Perez<sup>5</sup>, Liliana Santiago<sup>5</sup>, Erica R. Hynes<sup>1</sup>, Carina Viviana Bergamini<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INLAIN-CONICET, Facultad de Ingeniería Química (FIQ-UNL), Santa Fe.

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Agrarias (FCA-UNL), Esperanza.

<sup>3</sup> Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (FBCB-UNL), Santa Fe.

<sup>4</sup> CISME-CCT-CONICET Tucumán-Universidad Nacional de Tucumán, Yerba Buena, Tucumán.

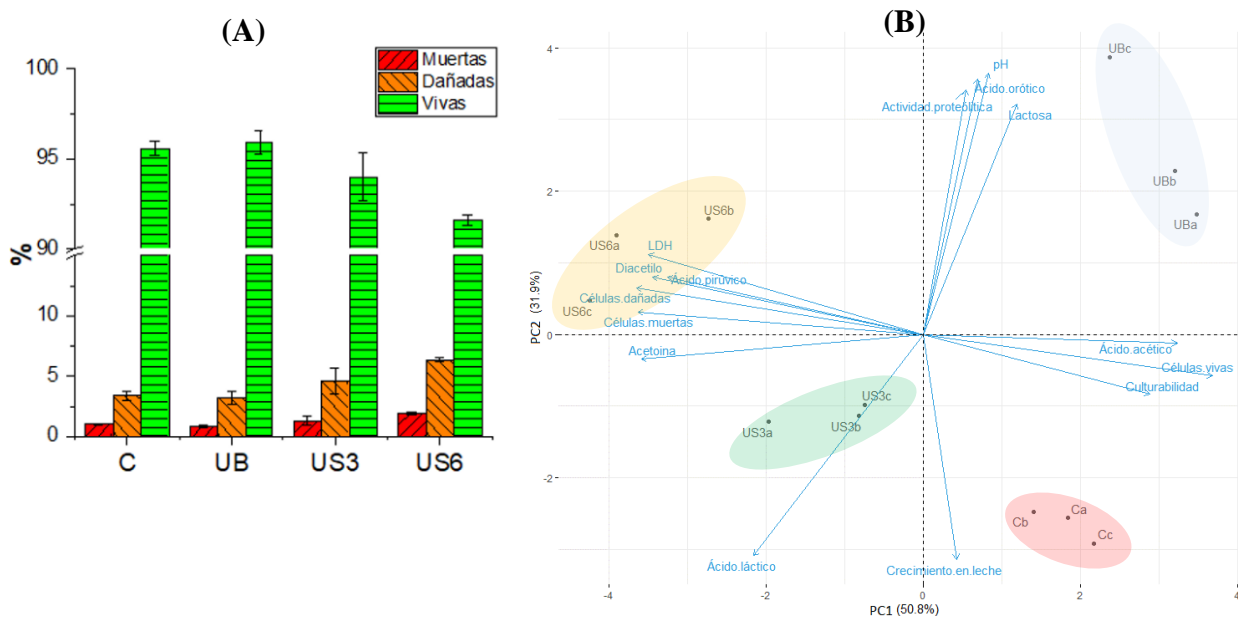
<sup>5</sup> ITA-UNL, Facultad de Ingeniería Química (FIQ-UNL), Santa Fe.

[gperalta@fiq.unl.edu.ar](mailto:gperalta@fiq.unl.edu.ar)

En los últimos años, los tratamientos con ondas ultrasónicas han sido los preferidos para modificar la permeabilidad de las bacterias lácticas impactando positivamente en su actividad metabólica (Calasso *et al.*, 2020). Estos tratamientos producen un fenómeno denominado cavitación que puede producir – a través de varias acciones mecánicas y químicas - la ruptura de las cubiertas celulares liberando el contenido citoplasmático. Este método se usa comúnmente a escala de laboratorio, particularmente por ser un método eficiente, económico y de simple aplicación. Además, presenta la ventaja de ser un método seguro para su uso en la industria alimentaria en la cual ya se lo utiliza para distintos fines como dispersión, limpieza de equipos, emulsificación, desgasificación, etc., con la posibilidad de ser aplicado a escala industrial. Sin embargo, la eficiencia de los resultados dependerá de la cepa utilizada, la intensidad del tratamiento, la enzima de interés, entre otros factores. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de tres tratamientos de ultrasonido sobre la culturabilidad, viabilidad, actividad enzimática y potencial metabólico de *Lacticaseibacillus paracasei* 90 (L90). L90 fue inoculada al 2% v/v en un medio comercial para lactobacilos (MRS) e incubada a 37 °C durante 20 h. Luego de la incubación, las células se cosecharon, se lavaron dos veces con buffer fosfato de potasio 50 mM, pH 7 y se resuspendieron en el mismo buffer para realizar los tratamientos. Las suspensiones fueron sometidas a tres tratamientos ultrasónicos diferentes: UB - un ciclo de sonicación utilizando un baño ultrasónico (40 kHz, 5 °C, 1 h); US3- tres ciclos de sonicación (40 W, 50% de amplitud, 4°C, 60 s y 60 s de enfriamiento en hielo después de cada ciclo) utilizando una sonda ultrasónica (US) de 20 kHz con una punta de 13 mm de diámetro; y US6- el mismo tratamiento descrito para US3 pero con seis ciclos de sonicación. La experiencia fue realizada por triplicado. Como control se utilizaron células sin tratar resuspendidas en buffer y mantenidas a 5 °C. Inmediatamente después de los tratamientos, se realizaron recuentos microbiológicos y análisis de viabilidad por citometría de flujo tanto en suspensiones de células no tratadas (C) como tratadas (UB, US3 y US6). La actividad lactato deshidrogenasa (LDH) se midió en extractos libres de células obtenidos después de la centrifugación de las suspensiones de células tratadas y no tratadas (Peralta *et al.*, 2019). Además, todas las suspensiones celulares fueron analizadas mediante microscopía electrónica de barrido (ME) (Peralta *et al.*, 2019). Finalmente, para evaluar el efecto de los tratamientos sobre el potencial metabólico de L90, las células fueron inoculadas al 2% v/v en leche UAT (Ultra Alta Temperatura) e incubadas durante 20 h a 37 °C. Al finalizar la incubación se evaluó: crecimiento, pH, actividad proteolítica, lactosa, ácidos orgánicos y producción de diacetilo y acetoína (Peralta *et al.*, 2019). Los resultados de todas las variables estudiadas se procesaron mediante análisis de varianza de una vía, con un nivel de significancia  $p < 0,05$  y métodos multivariados (correlación de Spearman, análisis de clúster, análisis de componentes principales) realizados en el software libre R ([www.r-project.org](http://www.r-project.org)).

No se encontraron cambios significativos ( $p > 0,05$ ) en la culturabilidad de L90 por los tratamientos aplicados. Sin embargo, el análisis de ME reveló la presencia de algunas células dañadas y lisadas en las suspensiones tratadas con US. Mediante el análisis de citometría de flujo se pudo clasificar a las células en tres subpoblaciones: vivas, dañadas y muertas. Las suspensiones celulares tratadas con US6 presentaron los niveles más altos de células muertas y dañadas y los niveles más bajos de

células viables ( $p < 0,05$ ) (Figura 1A). El metabolismo de la lactosa se vio fuertemente afectado por UB, y algunos cambios en los perfiles de ácidos orgánicos indicaron que la actividad metabólica de L90 también fue modificada por estos tratamientos. El daño en la integridad celular por US condujo a un aumento de la accesibilidad entre las enzimas y sustratos y se correlacionó positivamente con producciones mejoradas de diacetilo y acetoína. En la Figura 1B se muestra el resultado del análisis de componentes principales (CP) de todas las variables analizadas. Los dos primeros CP explicaron el 83% de la varianza total. Las elipses encierran las muestras según el análisis de conglomerados jerárquicos. Las diferencias entre los tratamientos fueron evidentes ya que las muestras tratadas con la sonda ultrasónica (US6 y US3) fueron claramente discriminadas de las tratadas con UB y las suspensiones sin tratar (C). Las muestras US3 y US6 se agruparon en el lado negativo de CP1 y se asociaron con las variables células dañadas, células muertas, actividad LDH, acetoína, diacetilo y ácido pirúvico. Las muestras UB se agruparon en el lado positivo de CP1 y CP2, y se asociaron con lactosa, pH, ácido orótico y actividad proteolítica. Finalmente, las muestras no tratadas (C) se agruparon en el lado positivo de CP1 y el lado negativo de CP2 y se asociaron con las variables crecimiento en leche, culturabilidad, células vivas y ácido acético. En general, nuestros resultados evidenciaron un impacto de los tratamientos de ultrasonido en la integridad de las células de L90 que condujo a una mayor permeabilidad y lisis, como lo demuestran las determinaciones de ME, citometría de flujo y actividad LDH. En cuanto a la capacidad de cultivo, no se observaron cambios significativos, posiblemente debido al balance resultante entre los efectos positivos (desaglomeración) y negativos (lisis) de los tratamientos sobre el crecimiento bacteriano. El aumento de la actividad proteolítica y la producción de diacetilo y acetoína junto con modificaciones de los perfiles de ácidos orgánicos y fermentación de carbohidratos indicaron que la actividad metabólica de L90 fue influenciada por los tratamientos ultrasónicos.



**Figura 1.** A: Porcentajes de las subpoblaciones celulares: vivas, dañadas y muertas, en las suspensiones control y tratadas con ultrasonido. B: Biplot del análisis de componentes principales de las variables.

Los resultados del presente trabajo indican que el potencial metabólico de L90 como cultivo adjunto fue mejorado por los tratamientos de ultrasonido.

### Bibliografía

01. Calasso, M., Minervini, F., De Filippis, F., Ercolini, D., De Angelis, M., Gobbetti, M., (2020). Attenuated *Lactococcus lactis* and surface bacteria as tools for conditioning the microbiota and driving the ripening of semisoft Caciotta cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 86, e02165–19.
02. Peralta, G.H., Bergamini, C., Hynes, E.R. (2019). Disruption treatments on two strains of *Streptococcus thermophilus*: levels of lysis/permeabilisation of the cultures, and influence of treated cultures on the ripening profiles of Cremoso cheese. *International Dairy Journal*, 92, 11–20