

# INVESTIGACIONES EN FACULTADES DE INGENIERÍA DEL NOA



INVESTIGACIONES EN FACULTADES DE  
INGENIERIA DEL NOA  
*ISSN: 1853-6662*

**PROPIEDAD:**

Esta publicación es propiedad del  
Consejo de Decanos de Ingeniería del  
NOA (CODINOA)

**PUBLICACIÓN Y COMPAGINACIÓN:**

Facultad de Ingeniería – Universidad  
Nacional de Salta.  
Avenida Bolivia N° 5150  
Salta (4400) – SALTA –  
REPÚBLICA ARGENTINA

**DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN:**

Delicia Ester Acosta  
Ricardo Daniel Quinteros  
Walter Orlando Vaca

## Autoridades

**Facultad de Tecnología y Ciencias Aplicadas - Universidad Nacional de Catamarca**  
*Ingeniero Agrimensor Carlos Humberto Savio*

**Facultad de Ingeniería - Universidad Nacional de Jujuy**  
*Ingeniero Informático Luis Alejandro Vargas*

**Facultad de Ingeniería - Universidad Nacional de Salta**  
*Ingeniero en Construcciones Héctor Raúl Casado*

**Facultad de Ciencias Exactas y Tecnologías - Universidad Nacional de Santiago del Estero**  
*Ingeniero Vial Pedro Juvenal Basualdo*

**Facultad de Agronomía y Agroindustrias - Universidad Nacional de Santiago del Estero**  
*Doctora Ingeniera en Industrias Agrícolas y Alimentarias Myriam Elizabeth Villarreal*

**Facultad de Ciencias Forestales - Universidad Nacional de Santiago del Estero**  
*Doctor Ingeniero en Industrias Forestales Juan Carlos Medina*

**Facultad de Ciencias Exactas y Tecnología - Universidad Nacional de Tucumán**  
*Doctor Ingeniero Electricista Miguel Ángel Cabrera*

3

### **Editor General**

Quinteros, Ricardo Daniel

### **Comité Editorial**

Dra María Soledad Vicente (UNSa)

Dr. Ricardo Daniel Quinteros (UNSa)

Dra. Delicia Ester Acosta (UNSa)

Sr. Walter Orlando Vaca (UNSa)

## Comité Científico Evaluador

Acosta, Carina Andrea (UNSE)	Irahola Ferreira, Jaime Alfonso (UNJu)
Acosta, Delicia Ester (UNSa)	Korzeniewski, María Isabel (UNCA)
Alancay, Matías Miguel (UNJu)	Ledesma, Ana Estela (UNSE)
Ale Ruiz, Elisa Liliana (UNSa)	Lorenz, Guido (UNSE)
Antequera, Teresa (UNJu)	Lores, Gustavo Alberto (UNJu)
Argañaraz, Jorgelina Francisca (UNJu)	Macias Numa, Sara Magdalena (UNSE)
Audisio, Marcela Carina (UNSa)	Madregal, Sergio Omar (UNJu)
Bellomo, Facundo Javier (UNSa)	Maldonado, Marta Silvina (UNJu)
Berejnoi, Carlos (UNSa)	Moraga, Norma (UNSa)
Bustos, Ana Yanina (UNSE)	Morales, Graciela del Valle (UNSa)
Cadena, Carlos Alberto (UNSa)	Naidicz, P. Lorena (UNT)
Cañas, Martha Susana (UNCA)	Nuñez, Alejandro (UNSa)
Casado, Juan Carlos (UNT)	Ocampo, Alejandra Irupé (UNCA)
Castillo, Angel Fabian (UNJu)	Ochoa, Nelio Ariel (UNSL)
Cheeín, Nori Esther (UNSE)	Ortin Vujovich, Adriana Elizabeth (UNSa)
Cid, Alicia Graciela (UNSa)	Ortiz, Erlinda del Valle (UNCA)
Costa Macías, Karina Eliana (UNSE)	Parra, María Verónica (UNSE)
Farfán, Roberto Federico (UNSa)	Paz Zanini, Verónica Irene (UNSE)
Ferreiro, Alejandro Remigio (UNSE)	Quinteros, Ricardo Daniel (UNSa)
Flores, Carola Victoria (UNCA)	Rey, Valentina (UNSE)
García, Elisa Mariana (UNSE)	Romano Armada, Neli (UNSa)
García, Luis Humberto (UNSE)	Ruano Sandoval, Gonzalo Javier (UNSa)
Gareca, Edith Amalia (UNJu)	Saluzzo, Luciana (UNJu)
Goldar, José Eduardo (UNSE)	Tarifa, Enrique Eduardo (UNJu)
Gómez Kamenopolsky, Patricia E. (UNCA)	Tarifa, Héctor Ramón (UNJu)
Guerrero, Elsa Marcela (UNICEN)	Veliz, Jonatan Hernán (UNT)
Gutierrez, Juan Pablo (UNSa)	Vera, Nancy Roxana (UNT)
Gutiérrez Cacciabue, Dolores (UNSa)	Visich, María del Carmen (UNSa)
Ibarguren, Carolina (UNSa)	Yazlle, Jorge Fernando (UNSa)

## Computación e Informática

- Perspectiva de la Informática Educativa para un modelo de integración curricular TIC basada en la Gestión del Conocimiento.....84**  
Infante, Cristina y Sosa, Mabel
- Herramientas de Big Data: Clustering aplicado a pacientes oncológicos.....92**  
Mignone, M. Florencia; Sfer, Ana M.

## Forestal, Agronomía y Alimentos

- Un plan de verificación de programas de prerequisites aplicado a una cítrica de Tucumán.....101**  
Chauvet, Susana; Albarracín, Patricia; Belló, B. Elí y Sánchez Loria, Carlos
- Caracterización dendroenergética de material genético seleccionado de *Eucalyptus camaldulensis*.....107**  
Gómez Acosta, Martín N.; Ludueña, Myriam E., Carreras, Rocío, Gulotta, Marta R. y Carranza, María E.
- Evaluación ecofisiológica de cultivos de hierbabuena (*Mentha spicata*) fertilizados con urea y vermicompost.....114**  
Meloni, Diego A.; Lescano, Julia A.; Bezerra da Silva, José A. y Beltrán, Rosa E.
- Extractos de hojas de *Prosopis alba* como conservante natural en una matriz cárnica.....120**  
Ruiz, Silvana C.; Zimerman, María; Martínez, Sandra L.; Morcuende Sánchez, David
- Arbustos y subarbustos con potencial apícola en la flora nativa de Santiago del Estero.....126**  
Palacio, Manuel O. y Roger, Enrique
- Efecto de prebióticos comerciales sobre el crecimiento de la cepa probiótica *Limosilactobacillus reuteri* CRL 1098.....134**  
Gómez, Jorge N.; Sosa, Andrea; Ledesma, Ana E.; Taranto, María P y Bustos, Ana Y.
- Estudio de la actividad proteolítica de bacterias lácticas aisladas de nichos autóctonos de Santiago del Estero.....140**  
Carol Paz, Juan J.; Bustos, Ana Y. y Ledesma, Ana E.
- Evaluación de la calidad microbiológica de productos alimenticios deshidratados obtenidos mediante diferentes procesos de secado.....146**  
Zutara, M. Silvina; Laguna, Vanesa B.; Maita Pablo S. y Giunta Sandra A.
- Gestión armonizada de alérgenos a la cadena alimentaria de una cítrica de Tucumán.....152**  
Chauvet, Susana; Albarracín, Patricia; Belló, B. Elí y Alves, Nancy

## Gestión de la Educación en Ingeniería

- Redes Educativas y Detección Comunidades.....159**  
Tarifa, Héctor R.; Condorí, Patricio O.; Medina, José L. y Pérez Ibarra, C. Marcelo

## Estudio de la actividad proteolítica de bacterias lácticas aisladas de nichos autóctonos de Santiago del Estero

Carol Paz, Juan J.<sup>1</sup>; Bustos, Ana Y.<sup>1,2,3</sup> y Ledesma, Ana E.<sup>1,4</sup>

(1) Centro de Investigación en Biofísica Aplicada y Alimentos, RN 9 Km 1125, El Zanjón (4206), Santiago del Estero, Argentina. [vcarolpazjuanjose@gmail.com](mailto:vcarolpazjuanjose@gmail.com).

(2) Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad Nacional de Santiago del Estero, Av. Belgrano 1912 (4200), Santiago del Estero, Argentina. [abustos@uspt.edu.ar](mailto:abustos@uspt.edu.ar)

(3) Facultad de Humanidades, Ciencias Sociales y de la Salud, Universidad Nacional de Santiago del Estero, Av. Belgrano 2180 (4200), Santiago del Estero, Argentina.

(4) Departamento Académico de Química, Facultad de Ciencias Exactas y Tecnologías, Universidad Nacional de Santiago del Estero, Av. Belgrano 1912 (4200), Santiago del Estero, Argentina. [analedesma@yahoo.com.ar](mailto:analedesma@yahoo.com.ar)

### RESUMEN

Las bacterias lácticas capaces de crecer en leche utilizan su sistema proteolítico para hidrolizar la caseína, proteína mayoritaria de la leche, y así obtener los aminoácidos necesarios para su desarrollo.

Estas reacciones proteolíticas son aprovechadas en muchos procesos fermentativos involucrados en la elaboración de alimentos con particulares características organolépticas y, en algunos casos, para aumentar el valor nutricional de los mismos. Sin embargo, la actividad proteolítica depende de la cepa y de parámetros fisicoquímicos como el pH.

Es por ello, que el objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad proteolítica de 16 cepas lácticas aisladas a partir de quesos de cabra regionales empleando el método de Bradford, para determinar la concentración de proteínas totales, y la técnica del *o*-ftalaldehído (OPA), para cuantificar aminoácidos libres. Los resultados obtenidos mostraron valores de concentraciones comprendidos entre (4,99 – 12,10) mg de proteínas libres por litro y (122,09 – 169,49) mmoles de glicina por litro; siendo las cepas CB17 y CB8, las de mayor y menor actividad, respectivamente. Potencialmente, estas cepas podrían emplearse para ser incluidas en procesos fermentativos con el propósito de modificar características sensoriales, aumentar el valor nutricional y mejorar la digestibilidad de alimentos fermentados.

Palabras claves: bacterias lácticas – actividad proteolítica - espectrofotometría

### ABSTRACT

Lactic acid bacteria capable of growing in milk use their proteolytic system to hydrolyze casein, the major milk protein, and thus obtain the necessary amino acids for their development.

These proteolytic reactions are used in many fermentative processes involved in the preparation of foods with particular organoleptic characteristics and, in some cases, to increase their nutritional value. However, the proteolytic activity depends on the strain and physicochemical parameters such as pH.

For this reason, the objective of this work was to evaluate the proteolytic activity of 16 lactic strains isolated from regional goat cheeses using the Bradford method, to determine the concentration of total proteins, and the *o*-phthalaldehyde technique (OPA), to quantify free amino acids. The results obtained showed concentration values between (4.99 – 12.10) mg of free proteins per liter and (122.09 – 169.49) mmols of glycine per liter; being the strains CB17 and CB8, those with the highest and lowest activity, respectively. Potentially, these strains could be used to be included in fermentative processes with the purpose of modifying sensory characteristics, increasing nutritional value and improving digestibility of fermented foods.

Keywords: acid lactic bacteria - proteolytic activity - spectrophotometry

## 1. INTRODUCCIÓN

Las bacterias lácticas son microorganismos de gran exigencia nutricional ya que requieren carbohidratos, vitaminas, purinas, pirimidinas, oligoelementos, péptidos y aminoácidos para desarrollar (Font de Valdez, 2005). Estos últimos, son obtenidos a partir del complejo sistema proteolítico que las caracteriza, y en el caso de aquellas bacterias capaces de crecer en leche, lo hacen a partir de la caseína, principal fuente de nitrógeno presente en la composición de dicha matriz. Este sistema proteolítico se compone de proteasas de envoltura celular, las cuales se encargan de hidrolizar parcialmente la caseína en péptidos y oligopéptidos, tal como se puede apreciar en la Figura 1. Estos últimos ingresan a la célula a través de transportadores específicos de membrana. Por último, ya en el interior celular, estas moléculas son degradadas por acción de varios tipos de peptidasas (Kieliszek,

circundante donde desarrolla la bacteria. Es por ello, que son las más estudiadas debido a sus múltiples aplicaciones biotecnológicas (Juillard, 2022).

Estudios recientes demuestran que los genes codificantes de proteasas de envoltura celular están ampliamente distribuidos en muchos de estos microorganismos, a excepción de *Levilactobacillus brevis*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Latilactobacillus sakei*, *Pediococcus acidilactici* y *Pediococcus pentosaceus* (Sun, 2015). Sin embargo, la información bioquímica y estructural de estas proteasas es limitada. Hasta la fecha, las más caracterizadas son: PrtP en *Lactocaseibacillus paracasei* subsp. *casei*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* y *Lactiplantibacillus plantarum* (Strahinic, 2010); PrtB en *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*; PrtH en *Lactobacillus helveticus*, PrtS en *Streptococcus thermophilus*; PrtR en

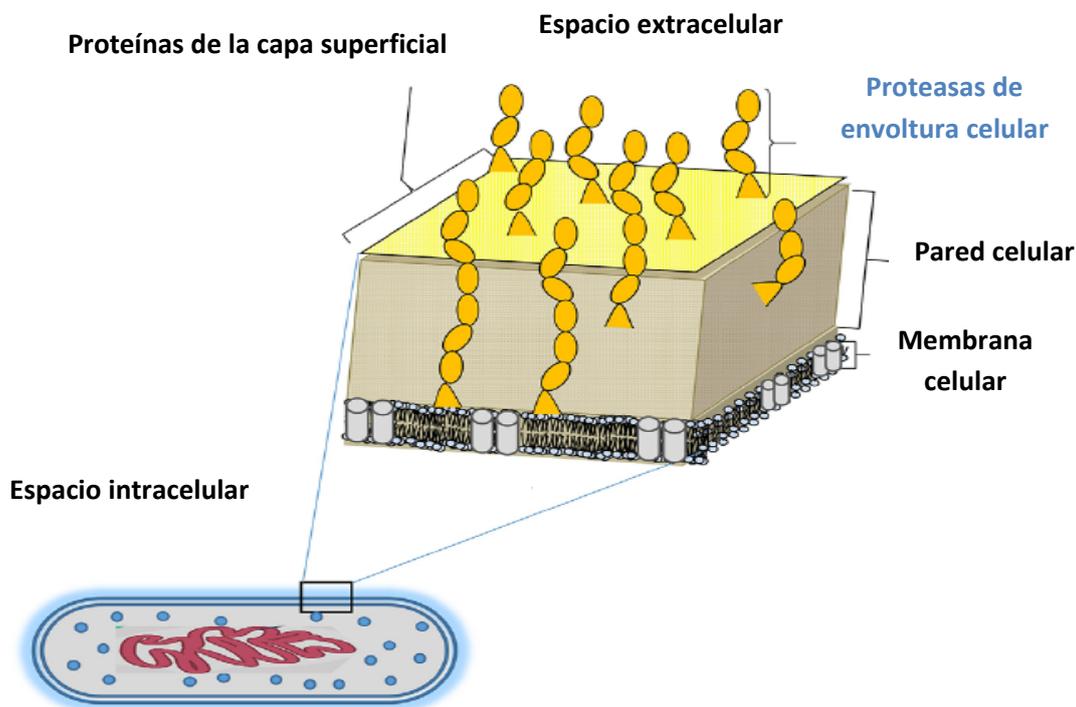


Figura 1. Proteasas de envoltura celular de bacterias lácticas.

2021).

En este sentido, las proteasas de envoltura celular, también llamadas lactocepinas, adquieren gran relevancia, ya que son el primer contacto de hidrólisis parcial de grandes proteínas del medio

*Lactocaseibacillus rhamnosus* y *Lactiplantibacillus plantarum*; y PrtL en *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* (Ji, 2020).

El estudio de proteasas y peptidasas pertenecientes a las bacterias lácticas es de gran

importancia, ya que muchos de estos microbios, al ser considerados inocuos, pueden participar en múltiples procesos, incluidos aquellos involucrados en la alimentación y la salud. Algunas de las aplicaciones biotecnológicas de estas enzimas están relacionadas con la fermentación de alimentos, al desarrollo de productos de limpieza y al diseño de cosméticos y fármacos, entre otros (Tavano, 2018).

En este marco, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la actividad proteolítica de un grupo de *Lactobacillus* spp. aislados a partir de quesos de cabra regionales empleando el método de Bradford, para determinar la concentración de proteínas totales, y la técnica del *o*-ftalaldehído (OPA), para cuantificar aminoácidos libres.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 *Microorganismos y condiciones de cultivo*

Se emplearon 16 cepas de *Lactobacillus* spp., (denominadas CB1-5, 8-18), previamente aisladas con técnicas estandarizadas por nuestro grupo de trabajo a partir de quesos de cabra regionales (Carol, 2021). Las mismas fueron cultivadas en caldo MRS a 37 °C previo a su empleo.

### 2.2 *Identificación bacteriana*

La identificación de las cepas seleccionadas se realizó a través de dos metodologías diferentes: espectrometría de masas MALDI-TOF, en el Hospital Alemán de Buenos Aires, y secuenciación del gen ribosomal 16S, en el Centro de Referencia de Lactobacilos (CERELA) en San Miguel de Tucumán. La primera metodología consistió en una extracción directa de colonias, sembradas en placas con agar MRS, las cuales fueron cubiertas con 1 mL de ácido fórmico al 70 % v/v como se describe en Barberis (2014). Los espectros obtenidos fueron comparados con bases de datos disponibles. En cuanto a la técnica de identificación genética, se emplearon dos cebadores (PLB16: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' y MLB16: 5'-GGCTGCTGGCACGTAGTTAG-3') en una reacción de cadena de la polimerasa que consistió en 30 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 30 segundos a 50 °C y 1 minuto a 72 °C.

### 2.3 *Actividad proteolítica extracelular*

Se determinó según los protocolos descriptos en Atasanova (2014) y Toe (2019) con algunas modificaciones. Para ello, se tomaron muestras de 1 mL de cada uno de los cultivos incubados durante toda la noche (16 horas), las cuales fueron centrifugadas a 13000×g durante 10 minutos a 4 °C. Se descartó el sobrenadante y todas las muestras fueron lavadas con solución fisiológica estéril (NaCl 0,8 % p/v) y resuspendidas en la misma solución. Para la mezcla de reacción se inocularon 70 µL de cada suspensión celular en 500 µL de caseína 0,5 mg/mL (preparada en solución tampón Tris-HCl de pH 7,43) y se incubó durante 2 horas a 37 °C.

#### 2.3.1 *Proteínas totales*

La determinación de la concentración de proteínas totales se realizó a través del método de Bradford. Este método consiste en el uso del colorante Coomassie Brilliant Blue G-250, el cual reacciona con aminoácidos, principalmente aromáticos y básicos, formando un complejo de color azulado que presenta un máximo de absorción a 595 nm (Bradford, 1976). Para ello, las muestras fueron centrifugadas en las mismas condiciones detalladas en la sección anterior, y luego se tomaron alícuotas de 100 µL de cada uno de los sobrenadantes obtenidos y se les adicionó 1 mL del reactivo de Bradford. Cada una de las muestras reposaron durante 5 minutos en oscuridad y se midió la absorbancia a 595 nm empleando un espectrofotómetro UV-Visible (Shimadzu YV-1800). La concentración proteica de cada una de las muestras se calculó mediante la construcción de una curva de calibración empleando soluciones patrón de albúmina sérica bovina.

#### 2.3.2 *Aminoácidos libres*

La cuantificación de aminoácidos libres se realizó mediante la técnica de OPA. Esta técnica consiste en la reacción de los  $\alpha$ -aminoácidos de las cadenas peptídicas con el reactivo de OPA en presencia de  $\beta$ -mercaptoetanol y en condiciones alcalinas, generando complejos que presentan un máximo de absorbancia a 340 nm (Church, 1985). Se tomaron alícuotas de 200 µL de la mezcla de reacción y se les adicionó igual volumen de ácido tricloro acético al 10 % p/v como se describe en Atasanova (2014), para precipitar las proteínas presentes (propias de la estructura celular y aquellas que no hayan sido hidrolizadas por las

bacterias). Luego, las muestras se centrifugaron en las mismas condiciones anteriormente detalladas. Una vez obtenidos los sobrenadantes, se tomaron alícuotas de 50  $\mu$ L, se les adicionó 1 mL del reactivo de OPA y se las dejó reposar durante 2 minutos en oscuridad. Por último, se midió la absorbancia a 340 nm. La concentración de aminoácidos libres se calculó a partir de la construcción de una curva de calibración con soluciones patrón de glicina.

#### 2.4 Preparación de extractos crudos de proteasas

La obtención de los extractos crudos de proteinasas se realizó siguiendo el protocolo descrito en Chen (2018). Para ello, se seleccionaron aquellas bacterias que evidenciaron mayor actividad proteolítica extracelular: CB1, CB16, CB17 y CB18. Las mismas fueron incubadas durante toda la noche (16 horas) a 37 °C. Los cultivos fueron centrifugados a 6000 $\times$ g, durante 10 minutos y a 4 °C. El sobrenadante de medio de cultivo fue descartado y las células lavadas tres veces con una solución tampón de Tris-HCl 50 mM (pH 7,8) en presencia de CaCl<sub>2</sub> 30 mM. Seguidamente, las células fueron resuspendidas en una solución de Tris-HCl conteniendo EDTA 50 mM a pH 7,0. Cada una de estas muestras fueron centrifugadas, a las mismas condiciones anteriormente detalladas, para luego conservar sus sobrenadantes.

#### 2.5 Ensayo de actividad específica

Para la determinación de la actividad específica, se incubaron los extractos crudos, en una relación 1:1, con una solución de caseína 5 mg/mL (preparada en una solución tampón de fosfato de sodio 50 mM, de pH 7,0), durante 1 hora y a 37 °C. La reacción se detuvo con el agregado de ácido tricloro acético al 10 % p/v. Estas mezclas fueron centrifugadas y se conservaron sus sobrenadantes. Por último, se tomaron alícuotas y se cuantificaron los aminoácidos libres a través de la técnica de OPA como antes fue descrito.

La actividad específica de los extractos crudos de proteasas (U/mg) se determinó a partir de la relación de los aminoácidos libres (U) y la proteína total (mg).

La cuantificación de proteínas totales y aminoácidos libres evidenció una moderada variación en la actividad proteolítica extracelular de las cepas evaluadas (ver Tabla 1). Luego de las 2 horas de incubación, las proteínas disminuyeron desde su valor inicial de 16,07 mg/mL hasta 12,10 y 4,99 mg/mL para las cepas CB8 y CB17, respectivamente. Las cepas restantes mostraron un grado de hidrólisis intermedio. Como era esperado, la concentración de aminoácidos libres en las diferentes muestras incrementó como resultado de la hidrólisis de la caseína. Al final del ensayo, la concentración de aminoácidos totales cuantificados osciló entre 122,09 y 169,49 mmoles de glicina/L.

Tabla 1. Actividad proteolítica en cepas de *Lactobacillus* spp. aislados de queso de cabra

Cepas	Actividad proteolítica	
	Aminoácidos libres (mmoles glicina/L)	Proteínas totales (mg proteína/L)
CB1	151,05 $\pm$ 17,16	8,58 $\pm$ 0,13
CB2	161,05 $\pm$ 9,73	10,41 $\pm$ 0,26
CB3	148,94 $\pm$ 4,14	10,67 $\pm$ 0,43
CB4	145,26 $\pm$ 4,44	9,41 $\pm$ 1,02
CB5	126,30 $\pm$ 18,97	9,98 $\pm$ 0,58
CB8	122,09 $\pm$ 20,51	12,10 $\pm$ 0,21
CB9	135,77 $\pm$ 8,93	10,69 $\pm$ 0,26
CB10	151,57 $\pm$ 9,30	11,82 $\pm$ 0,17
CB11	123,14 $\pm$ 15,30	9,92 $\pm$ 0,04
CB12	149,47 $\pm$ 5,99	11,20 $\pm$ 0,43
CB13	145,79 $\pm$ 4,14	7,47 $\pm$ 0,13
CB14	125,77 $\pm$ 16,71	9,75 $\pm$ 0,43
CB15	165,26 $\pm$ 16,74	10,20 $\pm$ 0,34
CB16	168,95 $\pm$ 20,51	9,69 $\pm$ 0,98
CB17	169,49 $\pm$ 5,24	4,99 $\pm$ 1,00
CB18	151,57 $\pm$ 3,35	11,69 $\pm$ 1,17
Control (sin fermentar)	61,44	16,07

Estos resultados fueron, inclusive, superiores a lo reportado en Atasanova (2014), donde distintas cepas de *Lactobacillus* spp., evidenciaron cierta actividad de hidrólisis frente a la caseína, la cual variaba de acuerdo a la cepa estudiada. Estos valores se encontraron comprendidos entre los 11 y 19 mmoles de aminoácidos libres por litro luego de 20 horas de incubación.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Por otra parte, los análisis de identificación bacteriana arrojaron los resultados que se pueden apreciar en la Tabla 2.

Tabla 2. Identificación de cepas lácticas por medio de espectrometría de masas MALDI-TOF(\*) y secuenciación del gen ARNr 16S(\*\*)

Cepas	Identificación
CB1*	<i>Lentilactobacillus parabuchneri</i>
CB2**	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
CB3*	<i>Lactiplantibacillus pentosus/plantarum/paraplantarum</i>
CB4*	<i>Lactiplantibacillus pentosus/plantarum/paraplantarum</i>
CB5*	<i>Lactiplantibacillus pentosus/plantarum/paraplantarum</i>
CB8*	<i>Lactiplantibacillus pentosus/plantarum/paraplantarum</i>
CB9*	<i>Lactiplantibacillus pentosus/plantarum/paraplantarum</i>
CB10*	<i>Lactiplantibacillus pentosus/plantarum/paraplantarum</i>
CB11**	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
CB12**	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
CB13*	<i>Lactiplantibacillus pentosus/plantarum/paraplantarum</i>
CB14**	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
CB15*	<i>Lactiplantibacillus pentosus/plantarum/paraplantarum</i>
CB16*	<i>Lactiplantibacillus pentosus/plantarum/paraplantarum</i>
CB17**	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
CB18	NO IDENTIFICADA

Las tres cepas seleccionadas, para la evaluación de actividad específica, fueron dos *Lactiplantibacillus plantarum* (CB16 y CB17), de los cuales uno pudo ser confirmado como tal a partir de la identificación del tipo genética, y un *Lentilactobacillus parabuchneri* (CB1). Las cepas CB1 y CB16 evidenciaron las mayores actividades específicas: 2,07 y 17,87 U/mg, respectivamente. Mientras que la cepa CB16 mostró un rendimiento más bajo en cuanto a su actividad, resultando en 1,40 U/mg. Estos resultados no coinciden con lo reportado en Chen (2018), quien observó diez veces mayor actividad específica en *Lactiplantibacillus plantarum* LP69. Sin embargo, esto no es sorprendente ya que dicha actividad depende, como ya se dijo, de la cepa bajo estudio y de parámetros fisicoquímicos

como el pH y la temperatura. En cuanto al *Lentilactobacillus parabuchneri*, sus estudios de actividad proteolítica frente a la caseína son muy escasos; sin embargo, existe evidencia de actividad positiva en algunas cepas crecidas en agar PCA suplementado al 1 % con leche en polvo reconstituida (Agostini, 2018). Por lo tanto, nuestros resultados servirán de puntapié para seguir profundizando en la caracterización de esta cepa.

Actualmente, se sabe que diferentes géneros de bacterias lácticas son consideradas débil a moderadamente proteolíticas (Toe, 2019). No obstante, la proteólisis es una de las reacciones enzimáticas más importantes y complejas que se producen en los productos lácteos lo cual está directamente relacionado con la utilización de la caseína. Esto proporciona a las células aminoácidos esenciales durante su crecimiento en leche. En los alimentos lácteos fermentados, la proteólisis mejora la digestibilidad de los productos, característica muy deseada, por ejemplo, en la industria de las fórmulas infantiles. La proteólisis también reduce la antigenicidad de las proteínas del suero que se cree provoca una respuesta inmune en algunos individuos (Tavano, 2018).

#### 4. CONCLUSIONES

En este trabajo, 16 cepas de bacterias lácticas aisladas de nichos autóctonos de nuestra provincial evidenciaron diferentes grados de proteólisis frente a la caseína. Las cepas CB17 y CB8 fueron las de mayor y menor actividades, respectivamente. Esto indica que la actividad proteolítica depende, entre otros factores, de la cepa bajo estudio. Estos resultados nos permitirán profundizar en el estudio de las potenciales propiedades biotecnológicas de estos microorganismos poder ser incluidos en procesos fermentativos con el propósito de modificar características sensoriales, aumentar el valor nutricional y mejorar la digestibilidad de ciertos alimentos que contengan niveles significativos de proteínas en su composición.

#### 5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado con fondos del proyecto “Análisis de propiedades estructurales y reactividades de núcleos bencénicos por

interacción con sistemas biológicos” (23/C147) brindado por el Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas de la Universidad Nacional de Santiago del Estero (CICYT-UNSE).

## 6. REFERENCIAS

- Font de Valdez, G., Martos, G.I. Biodiversidad de bacterias lácticas: conservación *ex situ* de cepas autóctonas argentinas, *Agrociencia*, 9, 431-434, 2005.
- Kieliszek, M., Pobiega, K., Piwowarek, K., Kot, A. M. Characteristics of the proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria, *Molecules*, 26, 1858-1872, 2021.
- Juillard, V., Lopez L., Monnet, V. Proteolytic systems of lactic acid bacteria (LAB), *Reference Module in Food Science*, 3, 249-255, 2022.
- Sun, Z., Harris, H.M., McCann, A., Guo, C., Argimón, S., Zhang, W., Yang, X., Jeffery, I.B., Cooney, J.C., Kagawa, T.F., Liu, W., Song, Y., Salvetti, E., Wrobel, A., Rasinkangas, P., Parkhill, J., Rea, M.C., O’Sullivan, O., Ritari, J., Douillard, F.P., Ross, P., Yang, R., Briner, A.E., Felis, A.E., Felis, G.E., de Vos, W.E., Barrangou, R., Klaenhammer, T.R., Caufield, P.W., Cui, Y., Zhang, H., O’Toole, P.W. Expanding the biotechnology potential of lactobacilli through comparative genomics of 213 strains and associated genera, *Nature Communications*, 6, 1-13, 2015.
- Strahinic, I., Kojic, M., Tolinacki, D., Topisirovic, L. The presence of *prtP* proteinase gene in natural isolate *Lactobacillus plantarum* BGSJ3-18, *Letters in Applied Microbiology*, 50, 43-49, 2010.
- Ji, D., Ma, J., Xu, M., Agyei, D. Cell-envelope proteinases from lactic acid bacteria: Biochemical features and biotechnological applications, *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*, 1-32, 2020.
- Tavano, O.L., Berenguer, A., Secundo, F., Fernandez, R. Biotechnological applications of proteases in food technology, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17, 412-436, 2018.
- Carol, J.J. Bacterias lácticas presentes en quesos de cabra regionales: estudio de su potencial biotecnológico y funcional usando cálculos computacionales. Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad Nacional de Santiago del Estero, 2021.
- Barberis, C., Almuzara, M., Join, O., Ramírez, M. S., Famiglietti, A., Vay, C. Comparison of the bruker MALDI-TOF mass spectrometry system and conventional phenotypic methods for identification of Gram-positive rods, *PLOS ONE*, 9, 106-303, 2014.
- Atasanova, J., Moncheva, P., Ivanona, I. Proteolytic and antimicrobial activity of lactic acid bacteria grown in goat milk, *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 6, 1073-1078, 2014.
- Toe, C., Foo, T., Loh, R. Mohamad, R., Rahim, R., Idrus, Z. Extracellular proteolytic activity and amino acid production by lactic acid bacteria isolated from Malaysian foods, *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 1777-1799, 2019.
- Bradford, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254, 1976.
- Church, F., Porter, D., Catignani, G., Swaisgood, H. An *o*-phthalaldehyde spectrophotometric assay for proteinases, *Analytical Biochemistry*, 146, 343-348, 1985.
- Chen, H., Huang, J., Cao, B., Chen, L., Song, N., Lei, N. Study of extraction and enzymatic properties of cell-envelope proteinases from a novel wild *Lactobacillus plantarum* LP69, *Catalyst*, 8, 325-338, 2018.
- Agostini, C., Eckert, C., Vicenzi, A., Lenhardt, B., Jordon, B., Kipper, J.P., Dullius, A., Dullius, C. H., Neutzling, D., Sperotto, R.A., Pozzobon, A., Eichelbelger C., Jachetti, M., Volken de Souza, C.F. Characterization of technological and probiotic properties of indigenous *Lactobacillus* spp. from south Brazil, *3 Biotech*, 8, 451-462, 2018.