



## EFECTO DEL pH Y PORCENTAJE DE SAL SOBRE LA CAPACIDAD DE AUTOLISIS DE *Lactococcus lactis*

Ruth Romero Medrano, Jennifer Ramírez Núñez, Gabriela Rodríguez Hernández, Néstor Gutiérrez Méndez\*

Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Ciencias Químicas. Circuito No. 1 nuevo campus universitario C. P. 31125, Chihuahua, Chih., México; Tel/fax (614)2366000, ngutierrez@uach.mx

Palabras clave: *Lactococcus lactis*, autolisis, sal, pH

**Introducción.** La autólisis en *L. lactis* es un fenómeno complejo que es regulado principalmente por la enzima N-acetil-muramidasa (AcmA); aunque existen otros factores que pueden influenciar la lisis celular. Las condiciones del medio como el pH, temperatura, disponibilidad de la fuente de carbono y concentración de sal influyen la actividad de la AcmA, y por tanto pueden influenciar el grado de autólisis que presenta [1].

La lisis celular en *L. lactis* durante el procesamiento y almacenamiento de queso es de particular importancia, debido a que permite que enzimas intracelulares claves en la formación de compuestos del sabor sean liberadas e interactúen con sustratos más fácilmente [2,3]. En la elaboración del queso Chihuahua la cuajada es adicionada con 3% de sal al alcanzar un pH de 5.5. Aunque se ha reportado el efecto del pH sobre la autólisis de *L. lactis*, no se han realizado estudios para evaluar el efecto combinado del pH y de la concentración de sal sobre la autólisis de *L. lactis*. El objetivo de este trabajo fue el de evaluar in-vitro, e in-situ el efecto individual y combinado del pH y la concentración de sal sobre el grado de autólisis en *L. lactis*.

**Metodología.** Se utilizaron 13 cepas de *L. lactis* previamente aisladas de cultivos comerciales, vegetales y muestras de queso Chihuahua. El porcentaje de autólisis se determinó evaluando el cambio en la densidad óptica (D.O.) a 590 nm durante 16 horas en intervalos de 2 horas; la temperatura de incubación fue de 32°C [2]. Para comprobar el efecto individual del pH y la concentración de NaCl, así como la interacción entre ambas variables, se utilizó un diseño 2<sup>k</sup> que comprendió los siguientes tratamientos: 1% NaCl, pH 7.0; 1% NaCl, pH 5.4; 3% NaCl, pH 7.0; 3% NaCl, pH 5.4.

Adicionalmente se evaluó en algunas cepas el grado de autólisis in-situ en leche coagulada-acidificada, con o sin la adición de NaCl al 3%. La determinación de autólisis se realizó siguiendo el cambio en la actividad de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) durante tres semanas.

**Resultados y discusión.** Al igual que lo reportado por otros autores [4], el grado de autólisis (cuadro 1) varió entre cepa y cepa. Entre los factores que afectan el grado de autólisis se encuentran: la presencia de autolisinas diferentes a AcmA, enzimas proteolíticas que desestabilizan la pared celular y degradan las autolisinas, enzimas líticas producidas por fagos, y diferencias estructurales en la cubierta celular. Por tanto el proceso de lisis celular en *L. lactis* varía ampliamente según la cepa [4].

En concentraciones bajas de sal (1%) y condiciones neutras (pH 7) todas las cepas presentaron el mayor porcentaje y velocidad de autólisis (cuadro 1). Por el contrario bajo una concentración de sal del 3% y un pH ácido (5.5), se inhibió o retardó la lisis celular en la mayoría de las cepas de *L. lactis* utilizadas en este estudio. Esto demuestra que aunque es muy probable que bajo condiciones de pH 5.5 y 3% de sal exista actividad de las autolisinas y se degrade la pared celular, la presión osmótica no permite que las células se rompan. Por lo tanto en el diseño de cultivos iniciadores para quesos como el Chihuahua o el Cheddar, es importante identificar y seleccionar cepas con alto grado de autólisis y que sean afectadas en menor grado por la concentración de sal y pH. Esto asegurará una rápida liberación de enzimas intracelulares en la matriz del queso Chihuahua y acortará su tiempo de maduración.

**Conclusiones.** La combinación de pH y concentración de sal influyen in-vitro e in-situ el porcentaje y velocidad de autólisis que presenta *Lactococcus lactis*

**Agradecimiento.** Se agradece al Fondo Mixto-Chihuahua, CONACyT por su apoyo financiero en proyecto CHIH-2008-C01-89480.



Cuadro 1. Porcentaje de autólisis en cepas de *Lactococcus lactis* bajo diferentes condiciones de pH y concentración de sal.

Origen	Cepa	1% NaCl - pH 7		3% NaCl - pH 5.5	
		velocidad de decremto de D.O.	autólisis* %	velocidad de decremto de D.O.	autólisis* %
I	PK04	0.0028	9.68 ± 3.82	0.0019	8.44 ± 0.7
I	CZ01	0.0029	10.7 ± 4.69	ND	ND
I	EZ02a	0.0051	18.2 ± 8.88	ND	ND
I	KK01	0.0059	23.2 ± 4.25	0.0047	8.9 ± 2.0
I	CZ01-ca	0.0069	28.9 ± 7.32	ND	ND
I	EZ03b	0.0114	31.0 ± 4.06	0.0066	40.0 ± 6.6
I	MA16L	0.0125	24.3 ± 9.94	ND	ND
I	KK05	0.0282	55.2 ± 6.37	0.0094	13.7 ± 3.2
Q	DE01b	0.0048	28.1 ± 5.1	0.0015	2.66 ± 0.8
Q	RQ07	0.0495	59.2 ± 6.68	0.0033	49.3 ± 2.7
V	BB07	0.0039	32.1 ± 5.7	0.0011	15.0 ± 3.9
V	MM01	0.0038	17.0 ± 3.63	0.0032	13.7 ± 4.4
V	EJ06	0.0058	10.0 ± 5.42	ND	ND

\*porcentaje de autólisis a 16 horas de incubación

ND no se detectó cambio en la densidad óptica

I = cepas comerciales; V = cepas aisladas de vegetales; Q = cepas aisladas de queso Chihuahua

### Bibliografía.

1. (1) Buist, G., Karsens, H., Nauta, A., van Sinderen, D., Venema, G. y Kok, J. (1997). Autolysis of *Lactococcus lactis* caused by induced overproduction of its major autolysin AcmA. *Appl Environm Microbiol* 63, 2722-2728.
2. Piraino P., Zotta T., Ricciardi A., McSweeney P., Parente E., 2008 Acid production, proteolysis, autolytic and inhibitory properties of lactic acid bacteria isolated from pasta filata cheeses: A multivariate screening study. *Int. Dairy J* 18: 81-92.
3. Sheehan, A., O'Cuinn, G., FitzGerald, R. y Wilkinson, M. (2006). Proteolytic enzyme activities in Cheddar cheese juice made using lactococcal starters of differing autolytic properties. *J Appl Microbiol* 100, 893-901.
4. Pillidge C., Rallabhandi P., Tong X-Z., Gopal P., Sulivan P. 2002 Autolysis of *Lactococcus lactis*. *Int. Dairy J* 12: 133-140.