

DETERMINACIÓN DE LA VIABILIDAD DE *BIFIDOBACTERIUM BIFIDUM* BAJO CONDICIONES GASTROINTESTINALES HUMANAS *IN VITRO*.

Angélica Gabriela Mendoza Madrigal, Enrique Durán Páramo*, Karina Cruz Pacheco, Gustavo Valencia del Toro. Departamento de Bioprocesos, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional, Av. Acueducto s/n, Col. La Laguna Ticomán, C.P. 07340, Distrito Federal, México.
Tel.57296000 Ext. 56347 eduran@ipn.mx

Palabras clave: *Bifidobacterium bifidum*, simulación *in vitro*, inmovilización celular.

Introducción. En el tracto gastrointestinal humano es donde se lleva a cabo la digestión de los alimentos, se compone de estómago, intestino delgado y grueso. Los probióticos, al ser consumidos en las cantidades recomendadas protegen al huésped de microorganismos patógenos y disminuyen las infecciones gastrointestinales; sin embargo, debido a la sensibilidad que estas bacterias presentan a las secreciones gástricas e intestinales es difícil que lleguen viables en la cantidad necesaria para ejercer su efecto probiótico.

El objetivo de este trabajo está relacionado con la evaluación de la viabilidad de *B. bifidum* en un simulador del tracto gastrointestinal humano *in vitro*.

Metodología. Se cultivó *B. bifidum* en medio MRS líquido (adicionado con cisteína), las condiciones de incubación fueron 24 h, 180 rpm y 37°C. La biomasa recuperada por centrifugación se utilizó libre e inmovilizada en alginato de sodio al 2 % (p/v) para determinar su viabilidad a lo largo del simulador; se utilizaron dos reactores que simulaban el estómago e intestino delgado del ser humano, las condiciones fueron: secreciones gástricas (pepsina 3 g/L y mucina 1g/L) pH de 2.0 y alimento muestra (desayuno) y secreciones pancreáticas (pancreatina, mucina 1 g/L y bilis 3 g/L) pH de 6.8. Durante las 4 horas de simulación se controló la temperatura y agitación. La viabilidad se determinó por el método de cuenta en placa y se reportó en porcentaje.



Fig. 1. Esquema general de la simulación *in vitro* del tracto gastrointestinal humano.

Resultados y discusión. En la figura 2 se presentan los resultados de la viabilidad de *B. bifidum* libre e inmovilizado bajo condiciones gástricas e intestinales simuladas *in vitro*. Las cinéticas de pérdida de viabilidad iniciaron con una concentración del orden de 10^9 UFC/mL que corresponde al 100% de las células viables

de *Bifidobacterium bifidum*. Transcurrido el tiempo de tratamiento bajo condiciones estomacales humanas *in vitro*, la viabilidad disminuyó 63.5 y 53% para células libres e inmovilizadas en alginato de sodio respectivamente; al finalizar el tratamiento bajo condiciones intestinales humanas *in vitro* se observa que el porcentaje de viabilidad para células libres es de 9.5 % (1.1×10^8 UFC/mL) mientras que para las células inmovilizadas en alginato de sodio es de 14.7 (8.8×10^8 UFC/mL).

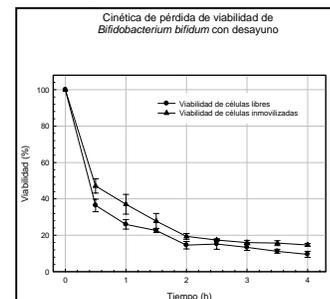


Fig. 2. Viabilidad de *Bifidobacterium bifidum* libre e inmovilizado bajo condiciones gastrointestinales humanas simuladas *in vitro* en presencia de alimento muestra.

El Error Promedio Porcentual Absoluto fue de 21%, lo que indica el porcentaje de desplazamiento de ambas curvas.

Conclusiones. De acuerdo a los resultados se observó que la viabilidad de *B. bifidum* cuando se utilizó el soporte de alginato de sodio fue 64 % mayor respecto a las células de forma libre. Además, la mayor pérdida de viabilidad ocurrió en los primeros 90 minutos de tratamiento que corresponden a las condiciones gástricas simuladas *in vitro*.

Agradecimiento. PIFI IPN, Proyecto: 20091568.

Bibliografía.

- (1) Bezkorovainy A. (2001). Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. *Am J. Clin. Nutr.* 73:399S-405S.
- (2) Mainville, I; Arcand, Y. and Farnworth, E. (2005). A dynamic model that simulates the human upper gastrointestinal tract for the study of probiotics. *Inter. J. of Food Microbiol.* 99: 287– 296.
- (3) Cruz, P. K. (2007). Inmovilización celular por atrapamiento, como vehículo de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bajo condiciones gastrointestinales humanas *in vitro*. Tesis de Maestría. UPIBI-IPN, México.
- (4) Annan N.T., Borza A.D., Truelstrup H. L. (2008). Encapsulation in alginate-coated gelatin microspheres improves survival of the probiotic *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during exposure to simulated gastro intestinal conditions. *Food Research Inter.* 41: 184–193.