



VIABILIDAD DE *LACTOBACILLUS DELBRUECKII* LIBRE E INMOVILIZADO, TRATADO BAJO CONDICIONES GÁSTRICAS E INTESTINALES HUMANAS SIMULADAS *IN VITRO.*

Karina Cruz Pacheco, Enrique Durán Páramo*, Angélica Gabriela Mendoza Madrigal, Fabián Robles Martínez y Gustavo Valencia del Toro.

Departamento de Bioprocesos, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional. Ave. Acueducto s/n, Col. Barrio la Laguna Ticomán, 07340, México, D.F., tel. 57 29 60 00 ext. 56347, fax ext. 56305, eduran@ipn.mx.

Palabras clave: Lactobacillus delbrueckii, condiciones gastrointestinales, viabilidad.

Introducción. El tracto gastrointestinal humano presenta una compleja variedad de condiciones fisicoquímicas y enzimáticas que intervienen durante el proceso digestivo. La bilis hepática en el duodeno y el medio ácido en el estómago humano, son las principales causas de pérdida de la viabilidad de bacterias lácticas probióticas antes de que éstas lleguen al colon humano y realicen su función probiótica. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de condiciones gastrointestinales simuladas in vitro sobre la viabilidad de Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus NRRL-734 libre e inmovilizado.

Metodología. Lactobacillus delbrueckii fue cultivado en medio MRS (1) e inmovilizado por atrapamiento en una solución de alginato de sodio al 2% (p/v) (2). Se realizaron cinéticas de pérdida de viabilidad con células inmovilizadas y libres como testigo (2). Las cinéticas comprendieron 2 etapas (simulación de estómago e intestino delgado in vitro), en la primera etapa se trataron las células en presencia de jugo gástrico (pepsina, mucina. NaCl a pH 2.0) durante 90 minutos. En la segunda etapa, se trataron las células en presencia de jugo pancreático (pancreatina, mucina y NaCl) y bilis hepática a pH 6.8, durante 150 min (3). La temperatura v agitación se mantuvieron constantes a 37°C y 50 rpm. La viabilidad de las células inmovilizadas y libres se determinó por cuenta en placa en medio MRS sólido (2) cada 30 min. Se emplearon como muestras alimento testigo (leche entera de vaca con almidón al 8% p/v) y alimento muestra (tortilla, pollo y chile).

Resultados y discusión. En la Figura 1 se puede observar que al inicio de la cinética la concentración de células viables fue de 10¹¹ UFC/mL para las tres muestras de células; al término de la etapa de simulación del estómago *in vitro* (minuto 90), el 39.7% (10¹⁰ UFC) de células libres en presencia de alimento testigo mantuvieron su viabilidad con respecto al 52.4% (10¹⁰) de las células inmovilizadas previamente, mientras que el 79.8% (10¹¹) de células libres en presencia de alimento muestra se conservaron viables. Durante la etapa de simulación de intestino delgado *in vitro*, la viabilidad de células libres cayó drásticamente a 9.8% (minuto 120) y

1.6% (10⁹ UFC) al término de la cinética (minuto 240). Mientras que el 38.5% (10¹⁰ UFC) de las células inmovilizadas se mantuvieron viables, lo que representó una concentración de células viables 24 veces mayor en comparación con las células libres tratadas bajo las mismas condiciones. Las células libres en presencia de alimento muestra conservaron el 72.5% (10¹¹) de su viabilidad.

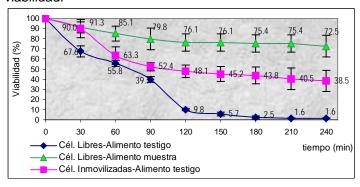


Figura 1. Viabilidad de Lactobacillus delbrueckii libre e inmovilizado bajo condiciones gastrointestinales humanas simuladas in vitro y en presencia de alimento testigo y alimento muestra.

Conclusiones. Con la aplicación de la técnica de inmovilización por atrapamiento en alginato de sodio y la adición de una muestra de alimento a base de tortilla, pollo y chile, *Lactobacillus delbrueckii* mantuvo tasas de viabilidad elevada tratado bajo condiciones gástricas e intestinales simuladas *in vitro*.

Agradecimientos. A la SIP-IPN por el apoyo financiero al proyecto 20091568 y al Programa PIFI-IPN.

Bibliografía.

1.Man, J. and Rogosa, M. (1960). "A medium for the cultivation of lactobacilli". *J. Appl. Bact.* 23(1), 130-135.

2.Cruz, K. 2007. "Inmovilización de Lactobacillus delbrueckii como vector probiótico". Tesis de Maestría. UPIBI-IPN. México. 3. Mainville, I; Arcand, Y; and Farnworth, E. 2005. "A dynamic model that simulates the human upper gastrointestinal tract for the study of probiotics". International Journal of Food Microbiology. 99:287-296.