



DETERMINACION DEL CRECIMIENTO DE *L. rhamnosus* GG y *L. acidophilus*, EN PRESENCIA DE DIFERENTES PREBIÓTICOS O LACTOFERRINA, USANDO UN MÉTODO MINIATURIZADO.

Silvia Carolina Moreno Rivas, Nancy Carolina Rodríguez Munguía, Gabriela Ramos Clamont Montfort*. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Coordinación de Ciencia de los Alimentos. Carretera a la Victoria Km 0.6. Hermosillo, Sonora, México. Cp 83304. gramos@ciad.mx.

Palabras clave: probióticos, prebióticos, crecimiento.

Introducción. La microbiota intestinal habita principalmente en el colon. En humanos, contribuye a desarrollar al intestino y su sistema inmune, y protege al hospedero de la invasión por microorganismos patógenos, entre otros ⁽¹⁾. En homeostasis, prevalecen poblaciones de bacterias benéficas (BF), p.e de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. En disbiosis (desequilibrio), aumentan las poblaciones de patógenos, enfermando al hospedero. Para recuperar la homeostasis se recomienda incluir en la alimentación, moléculas que promuevan el crecimiento de las BF. Los prebióticos son carbohidratos complejos que promueven el crecimiento de BF; la lactoferrina (Lf) es una glicoproteína que promueve el crecimiento de algunos probióticos ⁽²⁾. Este trabajo consistió en determinar el efecto de diferentes prebióticos o de la lactoferrina bovina, en las curvas de crecimiento de *Lactobacillus rhamnosus* GG y *L. acidophilus*, usando un método miniaturizado.

Metodología. Los ensayos de crecimiento se hicieron en placas de poliestireno de 90 pozos, estériles y con tapa, usando la técnica reportada por Sarabia Sainz et al., (2013). El efecto de la LF se midió a concentraciones desde 4 mg/mL hasta 0.4 µg/mL en caldo MRS con 0.5 % de cisteína (MRS-cys). Se utilizó un inóculo de 1 x10⁸ UFC/mL/pozo. Para determinar el efecto de los prebióticos se preparó medio mRS-cys sustituyendo los carbohidratos por el prebiótico (5 %) en estudio (IA= inulina de agave; FOS = fructooligosacáridos de chicoria; GOS = galactooligosacáridos; OP= oligosacáridos de pectinas; CM= carbohidratos de maíz). El crecimiento se determinó en MRS-cys con inóculo de 1 x10⁸ UFC/mL por pozo. Las lecturas de absorbancia a 620 nm se registraron por 24 h/cada 30 min. De cada pozo se generó una curva de crecimiento cuyos datos fueron analizados por el programa DMfit versión 2.0 (Norwich, United Kingdom) ⁽³⁾. El experimento se hizo por triplicado con 16 observaciones por réplica.

Resultados. Se observó un efecto bacteriostático de la lactoferrina tanto para *L. rhamnosus* GG, como para *L. acidophilus*, el cual provocó un aumento en la duración de la fase de retardo (lag) del 20 y 30 %, respectivamente. El efecto se observó únicamente a concentraciones de 2 y 4 mg/mL y se debió posiblemente

a la capacidad de secuestrar Fe que tiene la molécula de lactoferrina ⁽⁴⁾.

El efecto de los diferentes prebióticos en el crecimiento de *L. rhamnosus* GG y *L. acidophilus* se muestran en la Tabla 1. No hubo crecimiento de estos microorganismos en presencia de carbohidratos de maíz (datos no mostrados), pero sí con el resto de los sustratos. Los valores indicaron que *L. rhamnosus* GG creció mejor en presencia de oligosacáridos de pectina (OP), mientras que *L. acidophilus* lo hizo en presencia de fructooligosacáridos de chicoria (FOS). Sin embargo, no hubo efecto prebiótico, ya que ambos microorganismos crecieron mejor en glucosa.

Tabla 1. Fase lag, tasa de crecimiento y fase estacionaria de *L. acidophilus* y *L. rhamnosus* GG.¹

Carbohidrato	<i>L. acidophilus</i>			<i>L. rhamnosus</i> GG		
	Fase lag (min)	Tasa de crecimiento (DO ₆₂₀ /min)	Fase estacionaria (DO ₆₂₀)	Fase lag (min)	Tasa de crecimiento (DO ₆₂₀ /min)	Fase estacionaria (DO ₆₂₀)
Glucosa	285.9 ^a	2.40E-03 ^a	0.73 ^a	392.3 ^a	2.51E-03 ^a	0.71 ^a
IA	229.1 ^c	9.83E-04 ^e	0.26 ^e	210.5 ^{bc}	3.81E-04 ^c	0.31 ^c
FOS	204.6 ^d	1.08E-03 ^d	0.59 ^b	215.0 ^{bc}	3.81E-04 ^c	0.31 ^c
GOS	271.8 ^b	1.77E-03 ^b	0.55 ^c	226.0 ^b	3.25E-04 ^d	0.30 ^c
OP	230.1 ^c	1.18E-03 ^c	0.30 ^d	189.0 ^c	5.09E-04 ^b	0.36 ^b

¹Valores con letras distintas en una misma columna indican diferencia significativa (p<0.05).

Conclusiones. No se observó promoción de crecimiento de los probióticos, con las moléculas ensayadas.

Agradecimiento. Los autores agradecen las becas de Moreno Rivas y Rodríguez Munguía. El financiamiento fue obtenido por el proyecto SEP-CONACYT 169358.

Bibliografía.

1. Montalto M, D'Onofrio F, Gallo A, Cazzato, A, & Gasbarrini, G. (2009). *Digestive and Liver Disease Supplements*, 3(2), 30-34.
2. Quigley, E. M. M. (2010). *Pharmacological Research*, 61(3), 213-218.
3. Baranji J, Roberts T.A: (1994). *Int J Food Microbiology* ;23(3-4):277-94.
4. García-Montoya I, Cendón T, Arévalo-Gallegos S, & Rascón-Cruz Q. 2012. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1820(3): 226-236.