



## PRODUCCIÓN DE OLIGOSACÁRIDOS POR LA ACTIVIDAD DE GLICOSILTRANSFERASA DE BIFIDOBACTERIAS

Patricia Bustamante\*, Hugo Ramírez, Héctor Luna y Alejandro Azaola  
Departamento Sistemas Biológicos., Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.,  
Calz. del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Coyoacán, 04960, México D.F.

\*[azaola@correo.xoc.uam.mx](mailto:azaola@correo.xoc.uam.mx),

Palabras clave: Oligosacáridos, Bifidobacterias, Prebióticos

### Introducción.

Los probióticos se aplican únicamente a microorganismos vivos que presentan un efecto benéfico clínicamente establecido, con capacidad de sobrevivir durante su tránsito por el Tracto gastrointestinal Tgi (1). Las bifidobacterias y bacterias ácido lácticas (BAL) son las más estudiadas (1). Las bifidobacterias son consideradas fuentes potenciales de producción de Oligosacáridos Os (2,3) a partir de actividad glicosiltransferasa de la  $\beta$ -galactosidasa (2) y de la  $\beta$ -fructofuranosidasa. Las enzimas hidrolíticas, como las  $\beta$ -galactosidasas, son capaces de polimerizar los disacáridos de mayor peso molecular, como son los llamados Os (2,3). Estos son azúcares no digeribles capaces de inducir el crecimiento selectivo de bacterias nativas del tracto gastrointestinal de humanos y animales, consideradas sustancias prebióticas y entre ellas, los derivados de lactosa y sacarosa son de gran importancia. El objetivo de este trabajo es identificar y cuantificar por TLC y HPLC los posibles Os producidos por actividad glicosiltransferasa a partir de las enzimas  $\beta$ -galactosidasa y  $\beta$ -fructofuranosidasa, inducidas en cepas de Bifidobacterias.

### Metodología.

Las cepas utilizadas fueron *Bifidobacterium bifidum*, *B. lactis* (Bb-12), *B. infantis* (ATCC 17930), *B. breve* (ATCC 15700), *B. animalis* (ATCC 25527, 27536), *B. longum* (ATCC 15707), *B. adolescentis* (ATCC 15703) conservadas a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta su uso. Para la inducción de las actividades enzimáticas, se utilizó lactosa o sacarosa en el medio de cultivo TPYG en frascos viales gaseados con  $\text{CO}_2$  para mantener las condiciones anaerobias. La concentración celular al final de la fermentación se midió por cuenta en placa en medio MRS modificado. Para la producción de oligosacáridos, se utilizó lactosa o sacarosa al 30% en amortiguador de fosfatos a pH 7.0, una concentración celular de  $1 \times 10^{10}$  UFC/mL a  $50^{\circ}\text{C}$  y agitación de 200 rpm. La reacción fue parada con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.01 N. Las muestras fueron centrifugadas, filtradas por membranas de  $0.22 \mu\text{m}$  (Millipore) y almacenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis. La cuantificación de los Oligosacáridos se realizó por HPLC y por TLC. Los estándares utilizados fueron lactosa, sacarosa, estaquiosa, rafinosa, fructosa, glucosa y galactosa, según el caso.

### Resultados y discusión.

En la figura 1 se muestran los resultados de la obtención de Os obtenidos a partir de lactosa y de sacarosa. Las cepas con mayor producción fueron *B. lactis* y *B. longum* en ambos

sustratos, Figura 1A y Figura 1B. Las otras cepas, presentan mayor concentración de oligosacáridos derivados de sacarosa pero no de lactosa.

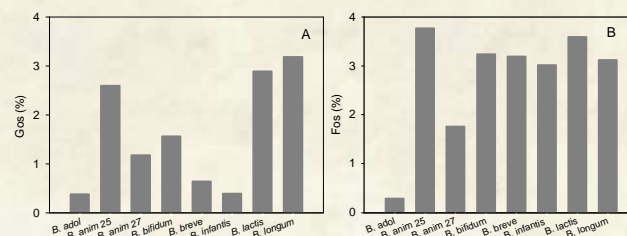


Figura 1. Producción de Gos (A) y Fos (B) a partir de enzimas  $\beta$ -gal y  $\beta$ -fructofuranosidasa de diferentes cepas de Bifidobacterias.

En la figura 2 se muestran los Os obtenidos y azúcares de referencia por TLC a partir de lactosa (Figura 2A) y sacarosa (Figura 2B) de *B. longum*.

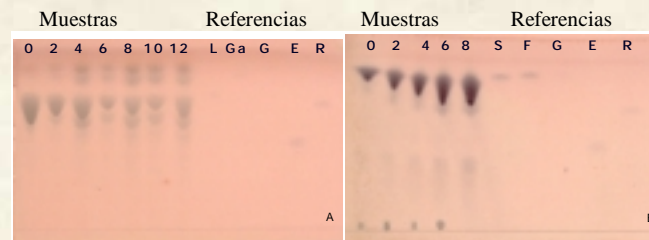


Figura 2. Identificación por TLC de Os derivados de lactosa por 12 h (A) y sacarosa por 8 h (B) a partir de *B. longum*.

### Conclusiones.

Las cepas de *B. lactis* y *B. longum* mostraron ser mejores para la producción de Os en ambos sustratos. En la figura 2 se observa que las manchas correspondientes a lactosa son también de lactulosa (Os de bajo peso molecular). Hay evidencias de Os de mayor grado de polimerización, sin embargo no fueron cuantificados.

### Bibliografía.

1. International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) 2003. *J. Clin. Gastroenterol.* 37:105-118
2. Rabi, B.A., Jay, A.J., Gibson, G.R. and Rastal, R.A. (2001) Synthesis and fermentation properties of novel galacto-oligosaccharides by  $\beta$ -galactosidase from bifidobacterium species. *Appl. Environ. Microbiol.* 67(6): 2526-2530.
3. Roy, D., Daoudi L. and Azaola, A. (2002). Optimization of galacto-oligosaccharide production by *Bifidobacterium infantis* RW-8120 using response surface methodology. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 29:281-285