



## EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD DE *LACTOBACILLUS DELBRUECKII* LIBRE E INMOVILIZADO BAJO CONDICIONES GASTROINTESTINALES SIMULADAS *IN VITRO*.

Karina Cruz Pacheco, Enrique Durán Páramo\*, Gustavo Valencia del Toro y Fabián Robles Martínez.

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional,  
Av. Cuauhtémoc s/n, Col. Barrio la Laguna Ticomán, México, 07340, D.F., tel. 57.29.60.00 ext. 56347.  
[eduran@ipn.mx](mailto:eduran@ipn.mx)

*Palabras clave: inmovilización celular, bacterias lácticas, viabilidad, alimento funcional.*

**Introducción.** *Lactobacillus delbrueckii* es una bacteria probiótica que habita en el tracto digestivo principalmente en el colon, y que tiene efectos benéficos en la salud del humano. *Lactobacillus delbrueckii* se utiliza de manera importante en la producción de yogur y diversos estudios han demostrado que pierde su viabilidad durante su paso a través del tracto gastrointestinal humano. Todo ello, debido principalmente al bajo pH que presenta el estómago, que puede tomar valores muy ácidos y a la presencia de bilis hepática en el duodeno humano. Con la finalidad de proteger a las bacterias lácticas durante su paso a través del tracto gastrointestinal humano se utilizan técnicas como la inmovilización celular, de tal manera que las bacterias lácticas lleguen viables y en número importante al colon y realicen su labor probiótica de manera eficaz.

En el presente trabajo se evaluó la aplicación de la técnica de inmovilización celular por atrapamiento en el mantenimiento de la viabilidad de células de *Lactobacillus delbrueckii* tratadas bajo condiciones gastrointestinales humanas simuladas *in vitro* (en presencia de bilis hepática y pH ácido).

**Metodología.** *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NRRL-734 se cultivó en medio MRS (1). La biomasa fue inmovilizada por atrapamiento en alginato de sodio al 2% (w/v). Se monitoreó la viabilidad de las células libres e inmovilizadas bajo condiciones gastrointestinales simuladas *in vitro*, en presencia de bilis Oxgall (Difco) con alimento muestra (desayuno ligero típico para un humano que consistió en fruta y leche) (2). Para determinar la viabilidad bacteriana de células libres e inmovilizadas se empleó la técnica de cuenta en placa en medio MRS sólido (3).

**Resultados y discusión.** Se realizaron cinéticas para determinar la pérdida de viabilidad de células de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* libres e inmovilizadas por atrapamiento en alginato de sodio al 2% (w/v). Las muestras fueron tratadas durante 30 minutos a pH de 2.4 en presencia de desayuno tipo (simulación *in vitro* de la etapa de estancia de las células en el estómago humano); posteriormente en presencia de bilis hepática al 0.3% (simulación *in vitro* de la etapa de estancia de las células en el duodeno humano) y desayuno tipo durante 60 minutos. La temperatura se mantuvo constante a 37°C y la agitación a 50 rpm. En la Figura 1 se puede observar que al minuto 30 la viabilidad de las células inmovilizadas en alginato al 2% fue de 87%, mientras que la de células libres fue de 72%. La velocidad de pérdida de las células libres fue dos veces mayor a la velocidad presentada en células de *Lactobacillus delbrueckii* inmovilizadas (0.94%/min y 0.43% min,

respectivamente). Por otra parte, en el minuto 90 la viabilidad de las células inmovilizadas en alginato al 2% fue del 59%, mientras que la de células libres fue del 24%. La velocidad de pérdida de viabilidad de las células libres fue casi dos veces (1.6) mayor con respecto de la velocidad de las células inmovilizadas, tratadas bajo las mismas condiciones (0.78%/min y 0.48%/min, respectivamente).

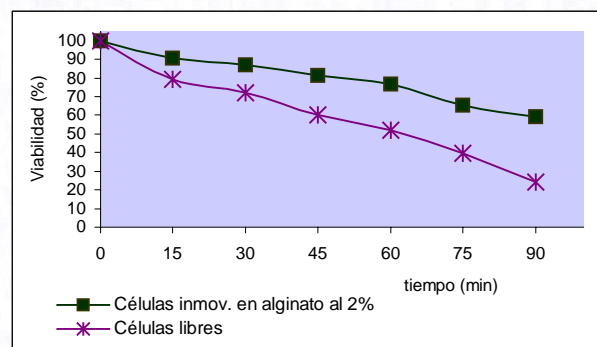


Figura 1. Cinética de pérdida de viabilidad de células libres de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* a pH 2.4 y en presencia de bilis 0.3% (w/v) y de alimento muestra.

**Conclusiones.** Con base en los resultados obtenidos de las simulaciones *in vitro* de las condiciones gastrointestinales humanas, podemos concluir que la técnica de inmovilización celular por atrapamiento minimiza de manera considerable la pérdida de viabilidad celular de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Por ello, dicha técnica puede ser aplicada como vehículo de bacterias lácticas viables en la producción de alimentos lácteos funcionales.

**Agradecimientos.** A la SIP-IPN por el apoyo financiero a los proyectos 20060651 y 20070160, al Programa PIFI-IPN y al Sistema Nacional de Investigadores-CONACyT.

### Bibliografía.

1. Man, J. and Rogosa, M. (1960). "A medium for the cultivation of lactobacilli". *J. Appl. Bact.* 23(1), 130-135
2. 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.
3. Cruz, K. 2003. "Aplicación de la inmovilización celular en la preservación de bacterias lácticas del género *Lactobacillus* y *Lactococcus*". Tesis de Licenciatura. UPIBI-IPN. México.