

MANTENIMIENTO DE *LACTOBACILLUS CASEI* VAR. *SHIROTA* POR LIOFILIZACIÓN E INMOVILIZACIÓN CELULAR.

Karina Cruz Pacheco, Alejandra Martínez Zambrano, Marco A. Brito Arias y Enrique Durán Páramo*
Departamento de Bioprocesos, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional. Ave. Acueducto s/n, La Laguna Ticomán, 07340 México, D.F. (55) 57.29.60.00 ext. 56339.
eduran@acei.upibi.ipn.mx

Palabras clave: *Lactobacillus casei*, inmovilización celular, viabilidad.

Introducción. *Lactobacillus casei* var. *shirota* es una bacteria láctica probiótica utilizada en la producción de Yakult, una bebida láctea fermentada. Las bacterias probióticas son microorganismos que aportan un beneficio al huésped que los consume. Entre los efectos benéficos que presentan los microorganismos probióticos en el huésped se encuentra la estimulación del sistema inmunológico y la disminución a la intolerancia a la lactosa. La inmovilización celular representa un conjunto de técnicas que permiten concentrar la biomasa en espacios reducidos, la reutilización del biocatalizador y la separación facilitada de la biomasa. Nuestro grupo de trabajo ha demostrado que la inmovilización celular acoplada a la liofilización puede ser aplicada en el mantenimiento y estabilización de bacterias lácticas de interés biotecnológico (1). En este contexto, el presente trabajo está relacionado con la aplicación de la técnica de atrapamiento celular y de la liofilización con el objeto de preservar la viabilidad de *Lactobacillus casei* var. *shirota*.

Metodología. *Lactobacillus casei* var. *shirota* fue aislada a partir del producto comercial Yakult. La bacteria se cultivó en medio MRS líquido (2) y se incubó a 38°C y 180 rpm durante 24 horas. La biomasa se recuperó por centrifugación a 5000 rpm durante 10 minutos. Una parte de la biomasa fue directamente liofilizada a -50°C y 5 micras de Hg de vacío durante 24 horas (3,4). Otra parte de la biomasa recuperada fue inmovilizada por atrapamiento celular. La inmovilización celular se realizó en tres diferentes formas: en 2% de γ -carragenina; en 2% de γ -carragenina y 10% de glicerina; en 2% de γ -carragenina y 10% de dimetilsulfóxido (DMSO). Las células inmovilizadas se liofilizaron a las mismas condiciones que las células libres. Las partículas resultantes de la liofilización se rehidrataron, y disolvieron para determinar la viabilidad celular por medio de la técnica de conteo en placa. Además, se determinó la viabilidad celular después del proceso de inmovilización, previa disolución de la matriz de inmovilización.

Resultados y discusión. El cuadro 1 permite comparar los resultados obtenidos en base al porcentaje de viabilidad obtenido después de aplicar los procesos de liofilización para células libres e inmovilizadas, y el proceso de inmovilización para las células atrapadas. Se puede observar que las células libres mantienen un porcentaje de viabilidad de 6 después del proceso de liofilización aplicado.

Cuadro 1. Viabilidad de *Lactobacillus casei* var. *shirota* libre e inmovilizado.

CÉLULAS	Viabilidad antes de inmovilizar y/o liofilizar (%)	Viabilidad después de inmovilizar (%)	Viabilidad después de liofilizar (%)
libres	100	-----	6
inmovilizadas	100	31	0
inmovilizadas + glicerina	100	64	0.5
inmovilizadas + DMSO	100	61	2

Con respecto a las bacterias inmovilizadas, la muestra inmovilizada sin agente crioprotector mantuvo solo el 31% de viabilidad después del proceso de inmovilización, sin embargo ninguna bacteria sobrevivió después del proceso de liofilización. Las muestras que fueron inmovilizadas en presencia de glicerina y DMSO presentaron porcentajes de viabilidad de 64 y 61, respectivamente, después del proceso de inmovilización. Posteriormente, las muestras liofilizadas mantuvieron sólo el 0.5 y 2% de viabilidad para las muestras con glicerina y DMSO, respectivamente.

Conclusiones y perspectivas. Los resultados presentados muestran que el efecto estabilizador de la inmovilización celular encontrado anteriormente con otro tipo de bacterias lácticas no se presentó en el caso de *Lactobacillus casei* var. *shirota*. El microorganismo aislado de un producto comercial debe de estar protegido genéticamente para no permitir su fácil reproducción.

Agradecimientos. Agradecemos el apoyo financiero del Instituto Politécnico Nacional (CGPI-20021348).

Referencias.

- Duran-Páramo E. *et al.* (2003). Cell immobilization application on the maintenance of viability of lactic acid bacteria. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, en prensa.
- Man, J.C., Rogosa, M. and Sharpe, M.E. (1960). A medium for the cultivation of Lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*, 23 (1), 130-135.
- Hunter-Cevera, C. Jennie (1996). Maintaining cultures for biotechnology and industry. Academic Press, New York.
- Kirsop, B.E. and Doyle, A. (1991), Maintenance of microorganisms and cultured cells. Academic Press, New York.