



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



VIABILIDAD Y METABOLISMO DE BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS EN LECHE CARBONATADA.

Arciniega-Bautista Dennis^{1,2}, Díaz-Ruiz Gloria², Barranco-Flrido Esteban¹, Martínez Cruz Patricia¹ y Rina González-Cervantes¹. ¹Departamento de Sistemas Biológicos. Universidad Autónoma Metropolitana. México, D.F. 04960. ²Facultad de Química, UNAM, México, D.F. 04510. gcrm4280@correo.xoc.uam.mx.

Palabras clave: Bifidobacterium, probióticos, cultivos anaerobios.

Introducción. Las especies del género *Bifidobacterium* tienen metabolismo heterofermentativo (a partir de glucosa se producen acetato y lactato), son bacterias anaerobias, bacilos gram positivos y uno de los grupos dominantes en la microbiota intestinal de infantes. Debido a sus beneficios en la salud se consideran como organismos probióticos¹. Uno de los problemas en la manufactura de los productos probióticos utilizando bifidobacterias, es su naturaleza anaerobia, ya que es difícil mantener un nivel de viabilidad necesario para que ejerzan sus efectos probióticos. Se ha mostrado que utilizando un ambiente de CO₂ en los cultivos con estos microorganismos, el crecimiento y el desarrollo de colonias es estimulado comparando con una condición en la que se ha utilizado N₂².

El objetivo de este trabajo es determinar los efectos de la aplicación de CO₂ a leche descremada, fermentar con *B. animalis* y evaluar el efecto sobre la viabilidad y el metabolismo de este microorganismo probiótico.

Metodología. Se utilizó la cepa *Bifidobacterium animalis* ATCC 25527, la activación de la cepa se realizó en medio MRS/cisteína, previamente burbujeado con CO₂ de alta pureza, sellado y esterilizado. Las condiciones de incubación fueron a 37°C, 100rpm, por 11 horas cuando el cultivo alcanzó la fase exponencial. Las fermentaciones en leche con diferentes concentraciones de CO₂, fueron inoculadas a partir del cultivo anteriormente mencionado (5% v/v) a 37°C/100 rpm/12 h. Se obtuvieron diferentes concentraciones de CO₂ al adicionar diferentes volúmenes de agua previamente gasificada a leche descremada reconstituida (4% w/v). La concentración de CO₂ para cada condición se determinó de acuerdo al método de titulación estándar para determinar concentración de CO₂ en vinos (AOAC⁵). Se tomaron muestras cada 2 horas, para el monitoreo de crecimiento, pH, ácidos orgánicos (HPLC). El crecimiento se siguió por ácidos titulable y la viabilidad se determinó a las 0 y 10 horas de fermentación. Diluciones seriadas se plaquearon en agar MRS/cisteína y se incubaron en cámara anaerobia por 48 horas.

Resultados. El comportamiento en el crecimiento y en el perfil de pH de los cultivos de *B. animalis* en leche carbonatada muestran una fuerte similitud entre las condiciones donde se utilizaron diferentes concentraciones de CO₂, por otro lado los resultados de

viabilidad (log UFC/ml) si mostraron diferencia significativa entre los medios de leche carbonatada. Al aplicar una prueba de análisis de varianza de rango múltiple, se encontró que al adicionar 40% de agua gasificada (180.6 mg CO₂/100ml), se obtuvo la viabilidad más alta de *B. animalis* a las 10 h de fermentación (tabla 1). Se realizaron análisis de la producción de ácidos orgánicos con el fin de conocer si existe también un efecto en el metabolismo del microorganismo.

Tabla 1. Viabilidad de *B. animalis*.

Porcentaje de contenido de agua gasificada (mg CO ₂ /100ml)	10 h de fermentación (log CFU/ml)*
0 (0.0)	8.16 ± 0.25
20 (107.4)	8.08 ± 0.23
40 (180.6)	8.57 ± 0.65
60 (255.5)	8.04 ± 0.57
80 (298.8)	8.13 ± 0.25

Conclusiones. 1. La aplicación de agua carbonatada a leche descremada reconstituida nos permitió tener condiciones con diferentes concentraciones de CO₂ para poder evaluar su efecto sobre el crecimiento, metabolismo y viabilidad en *B. animalis*. 2. Entre las condiciones utilizadas en la fermentación de leche, la concentración del 40% (180.6 mg CO₂/100ml) presentó la viabilidad más alta. Esta viabilidad (3.7 x 10⁸) es considerada suficiente para que el efecto probiótico se produzca. Se propone el uso de esta condición para diseñar una bebida láctea gaseosa, utilizando a *B. animalis* como probiótico. Se esperan resultados de rendimiento en la producción de ácidos orgánicos para evaluar el efecto del CO₂ en su metabolismo.

Bibliografía.

- Teitelbaum, J.E., y Walker, W. A. (2002). *Annual Review Nutrition*. 22:107-138.
- Kawasaki, S., Nagasaku, M., Mimura, T., Katashima, H., Ijyuin, S., Satoh, T., Niimura, Y. (2007). *Appl Env Microbiol*. 73 (23):7796-7798.
- AOAC INTERNATIONAL, Official Methods Of Analysis. AOAC Official Method 988.07. 18th ed. Gaithersburg, Maryland, Estados Unidos. Chap. 27 pp. 10-11, Chap. 28. pp. 14-15.