



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA APLICADA
CIBA-IPN TLAXCALA

**EVALUACIÓN DEL POTENCIAL PROBIÓTICO DE
CEPAS DE *Lactobacillus* PARA SU USO EN
UN ALIMENTO FUNCIONAL**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA AVANZADA

PRESENTA:
ARIANA HERNÁNDEZ RAMÍREZ

DIRECTORES DE TESIS:
Dra. MÓNICA ROSALES PÉREZ
Dr. SERGIO RUBÉN TREJO ESTRADA

Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala Junio 2009

RESUMEN

En los últimos años, la biotecnología ha experimentado grandes avances que se han reflejado en muchas de sus aplicaciones industriales, sobre todo en la industria alimentaria. Es en este campo, donde la producción de alimentos funcionales y los probióticos ha tenido un gran auge, debido a su contribución al bienestar en el consumidor. El género microbiano más estudiado por su potencial probiótico es *Lactobacillus*, el cual ha sido aislado de diversos hábitats. El objetivo del presente trabajo, fue evaluar el potencial probiótico de un cultivo con potencial probiótico de cepas de *Lactobacillus para paracasei* (8, 10, 17, 22) aisladas de aguamiel con tres medios de cultivo formulados según los requerimientos nutricionales para Lactobacilos: 1) medio MRS convencional (Oxoid), 2) medio MRS* modificado (MRS *) (suplementado con cobalamina), y 3) medio MSB (Medio suplementado con soya y melaza). Se determinaron los parámetros: viabilidad, biomasa, antagonismo tanto del paquete celular como del sobrenadante, adherencia a células HeLa. Finalmente se realizó una cinética de crecimiento en el cultivo seleccionado, que presento mejores propiedades, y se confirmaron las características probióticas y producción de ácido láctico. El medio MSB favoreció el recuento celular y biomasa de las cepas, en especial el de la cepa 22. El sobrenadante y el cultivo de la cepa 22, crecida en medio MSB presentaron evidencia de actividad antimicrobiana expresada por halos de inhibición (> 5 mm) del crecimiento de los patógenos EHEC (O157:H7) y *Salmonella serotipo Typhi*, en contraste con el sobrenadante obtenido del medio MRS*, que solo presento actividad contra *Salmonella*. Las cepas crecidas en medio MSB presentaron un patrón de adherencia agregativa más definida sobre células HeLa. La cinética de crecimiento con la cepa 22 en el medio MSB, mostró un recuento máximo de 4.95×10^9 UFC/ml y una biomasa de 8.7 g/L a las 24 h, La $\mu_{\text{máx.}}$ de la cepa fue de 0.30 h^{-1} en ambas condiciones de aireación, alcanzándose a las 8 h de incubación. Los valores máximos de ácido láctico que fueron alcanzados a las 68 h de incubación corresponden a 7.47 g/L, en condiciones de agitación y 7.02 g/L en estático. El costo del medio de cultivo MSB es 53,5% menor al del medio MRS convencional (Oxoid), resultando económicamente más rentable la utilización del medio MSB para la producción de cultivos probióticos con aplicación en la industria de los alimentos.

ABSTRACT

In the last years, the biotechnology has experienced great advances that have been reflected in many of their industrial applications, especially in the food industry. It is in this field, where the production of functional food and the probiotics has had a great summit, due to their contribution to the well-being in the consumer. The microbial genus most studied due the probiotic potential is *Lactobacillus*, which has been isolated of diverse habitats. The aim of this study was to evaluate the potential probiotic from strains of *Lactobacillus para paracasei* (8, 10, 17, 22) isolated of aguamiel. Three media were evaluated formulated according to the nutritional requirements of the Lactobacilos: 1) conventional MRS (Oxoid), 2) modified MRS* (MRS*), (suplemented with cobalamin), and 3) MSB (suplemented with soy bean and molasses). The parameters determined were: viability, biomass, antagonism of the cellular package and of supernatant, adherence to HeLa cells. Finally growth kinetic was realized selected culture, probiotic characteristics and production of lactic acid were confirmed. The MSB media, promoted cell growth and biomass of the strains, especially of the strain 22. The supernatant and bacterial cells of strain 22, grown in MSB medium presented evidence of antimicrobial activity expressed by inhibition halos (> 5 mm) the pathogenic EHEC (O157:H7) and *Salmonella* serotipo *Typhi* growth, in contrast with supernatant obtained of MRS* medium, that only presented activity against *Salmonella*. The strains grown well defined MSB showed an aggregative adherence phenotype to HeLa cells. The growth kinetic carried out with the strain 22 in the media MSB, the strain showed at 12h of growth a maxima cellular viability of 4.95×10^9 UFC/ml and a biomass of 8.7 g/L. The $\mu_{\text{máx.}}$ of the strain was of 0.30 h^{-1} under both aeration conditions, being reached at 8h. of incubation. The maximum values of lactic acid were reached at 68 h of incubation correspond to 7.47 g/L, in conditions of agitation and 7.02 g/L in statically. The cost of the medium of culture MSB is 53,5% minor to that of the conventional MRS (Oxoid), Therefore it demonstrated to be economically more profitable the utilization of this medium for the production of cultures probiótics with application in the industry of the food.