



Revista Cubana de Ciencia Agrícola

ISSN: 0034-7485

rcca@ica.co.cu

Instituto de Ciencia Animal

Cuba

García, Yanelys; Boucourt, R.; Albelo, Nereida; Núñez, Odalis
Fermentación de inulina por bacterias ácido lácticas con características probióticas
Revista Cubana de Ciencia Agrícola, vol. 41, núm. 3, 2007, pp. 263-266
Instituto de Ciencia Animal
La Habana, Cuba

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193017693011>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Fermentación de inulina por bacterias ácido lácticas con características probióticas

Yanelys García, R. Boucourt, Nereida Albelo y Odalis Núñez

Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, La Habana

Correo electrónico: ygarcia@ica.co.cu

Dos cepas probióticas de *Lactobacillus salivarius* (7 y 65) y una mezcla probiótica se evaluaron *in vitro*, para conocer la capacidad de fermentar la inulina (prebiótico). Se desarrolló un experimento para evaluar la capacidad de los microorganismos de fermentar azúcares simples (glucosa y fructosa). Posteriormente, se sustituyó la fuente energética del medio MRS por inulina. Cuando se utilizaron los azúcares simples en el medio la cepa 65 obtuvo el mayor crecimiento ($P < 0.05$). En el medio con prebiótico hubo crecimiento de todas las cepas, y coincidió la de mayor crecimiento con la cepa 65 de *Lactobacillus salivarius* ($P < 0.001$). Se logró la disminución del pH del medio de cultivo, el cual se evidenció más en las cepas 7 y 65. Los resultados obtenidos son muy importantes, pues permitieron determinar que todas las cepas analizadas utilizan la inulina como fuente energética. La cepa 65 de *Lactobacillus salivarius* fue la de mayor potencialidad para ser utilizada de forma combinada con el prebiótico. Esto podría generar trabajos futuros dirigidos a la obtención de productos simbióticos, en los que se potenciarían sus efectos.

Palabras clave: inulina, probiótico, prebiótico, fermentación.

La composición de la dieta influye en el control y en la modulación de diversas funciones en el organismo, así como en el tracto gastrointestinal y en el equilibrio de su microbiota. Sin embargo, diferentes factores como el estrés, la aplicación de medicamentos y el tipo de alimentación, entre otros, pueden crear un estado de desequilibrio que provocaría diferentes enfermedades que influyen en el estado fisiológico en el hombre y los animales. En estos últimos, repercuten también en su comportamiento productivo (Bengmark 1998). La utilización de probióticos y prebióticos permiten el restablecimiento y desarrollo de la biota bacteriana benéfica, así como de las células colónicas epiteliales (García *et al.* 2002), por lo que constituyen una alternativa promisoría.

Los probióticos son aditivos alimentarios formados por microorganismos vivos que tienen efecto beneficioso en la salud del hospedero (Schrezenmeir y De Vrese 2001). Diferentes autores plantean que la capacidad de las bacterias probióticas para fermentar oligosacáridos es una característica especialmente importante para estos microorganismos (Collins y Gibson 1999 y Kaplan y Huthins 2000).

Gibson y Roberfroid (1995) definieron al prebiótico como un ingrediente alimentario no digerible que beneficia al hospedero, estimulando su crecimiento y/o la actividad de una o varias bacterias en el colon; por tanto, mejora su salud. Existe gran variedad de compuestos prebióticos, entre ellos los más estudiados son la inulina y los fructooligosacáridos.

La inulina pertenece al grupo de los fructanos. Es un

glucosa terminal (Vijn y Smeekens 1999). Su estructura no permite que sea hidrolizada en la parte superior del tracto gastrointestinal. Se metaboliza en el colon, selectivamente, por bifidobacterias y lactobacilos que producen enzimas fructofuranosidasa (Warchol *et al.* 2002).

En la actualidad se estimula la utilización combinada de cepas probióticas con prebióticos, para formar los productos simbióticos, en los cuales el prebiótico constituye una fuente energética que incrementa la supervivencia intestinal de las bacterias beneficiosas (Fook *et al.* 1999).

Debido al considerable interés comercial e investigativo de los prebióticos y bacterias probióticas, el objetivo de este estudio fue estudiar la capacidad de algunas bacterias ácido-lácticas, con características probióticas para fermentar la inulina.

Materiales y Métodos

Microorganismos y medios de cultivo: Se utilizaron dos cepas de *Lactobacillus salivarius* (7 y 65), autóctonas de la mucosa del ciego de pollos de ceba, provenientes del cepario de bacterias ácido lácticas del Instituto de Ciencia Animal de Cuba y una mezcla probiótica de *Enterococcus faecium*, DSM 16211, *Lactobacillus reuteri*, DSM 16350, *Lactobacillus salivarius ssp. Salivarius*, DSM 16351, *Pediococcus acidilactici*, DSM 16210 y *Bifidobacterium animalis*, DSM 16284, que se encontraba liofilizado. Como fuente energética, se empleó la glucosa (BDH) y la fructosa (BDH) y como prebiótico, la inulina (BDH).

la glucosa por fructosa. Se esterizaron a una atmósfera de presión durante 20 min. En la preparación del medio MRS-inulina, se siguió la metodología descrita por Kaplan y Hutkins (2000).

Procedimiento: Para investigar la influencia de diferentes fuentes de carbohidratos en el crecimiento de las bacterias probióticas se desarrollaron dos experimentos *in vitro*. Se activaron las cepas estudiadas en medio MRS líquido y se incubaron a 37 °C, durante 24 h.

Para evaluar el crecimiento de estas bacterias probióticas en presencia de dos monómeros como fuente energética (glucosa y fructosa), se tomó 1 mL de los tubos de cultivo de cada una de las cepas que se evaluarían y se sembró en medio MRS y MRS-fructosa. La relación de inoculación fue de 1/10 (v/v) y el pH inicial fue de 6.2. La incubación se realizó durante 24 h, a 37 °C.

Posteriormente, se realizó un segundo experimento para evaluar la capacidad de los microorganismos estudiados de fermentar una fuente prebiótica. Se tomó 1 mL de los tubos de cultivo de cada una de las cepas y se sembró en medio MRS-inulina. La relación de inoculación fue de 1/10 (v/v) y el pH inicial, de 6.2. La incubación se realizó durante 24 h, a 37 °C.

Al final de la incubación de ambos experimentos, se determinó el crecimiento microbiano por estimación de densidad óptica en un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 625 nm. Para el pH del medio de cultivo, se utilizó un pH metro digital, marca WTA.

Tratamiento estadístico: Se utilizaron tres réplicas que se procesaron mediante análisis de varianza de clasificación simple, para determinar diferencias significativas. Para la comparación de medias, se aplicó la dócima de comparación de Duncan (1955), según el programa estadístico computarizado ANALEST (1998) versión 2.0.

Resultados y Discusión

Todos los microorganismos que se evaluaron fueron capaces de fermentar los monómeros de glucosa y fructosa (tabla 1). La cepa 65 de *Lactobacillus salivarius*, en estas condiciones experimentales, tuvo mayor capacidad para asimilar los carbohidratos, lo que le permitió lograr el mejor crecimiento ($P < 0.05$). El menor crecimiento lo obtuvo la mezcla probiótica en el medio con glucosa y la cepa 7 de *Lactobacillus salivarius*, cuando se utilizó la fructosa como fuente energética.

La capacidad de estas cepas de asimilar los dos monómeros de azúcares sugiere que estos microorganismos tienen diferentes rutas metabólicas para la obtención de energía, a partir de estos carbohidratos, ya que tuvieron muy poco crecimiento cuando se eliminaron estos azúcares en el

capacidad de fermentar diferentes carbohidratos. Brizuela (2003) determinó el perfil de fermentación de carbohidratos de dos cepas de *Lactobacillus rhamnosus* y encontró que estos microorganismos son capaces de asimilar diferentes azúcares, dentro de ellos la glucosa y la fructosa. Sin embargo, van der Meulen *et al.* (2006) encontraron que la glucosa y la fructuosa no eran buenos sustratos para la cepa DN 173 010, de *Bifidobacterium animalis*. Por esto, el metabolismo del azúcar en las bacterias ácido lácticas depende de la especie y de la cepa específica (Kuwuhara *et al.* 2004).

La cepa 65, de *Lactobacillus salivarius*, logró la mayor disminución del pH ($P < 0.05$) (tabla 2), lo que indica que es capaz de generar mayor cantidad de ácidos, producto de la fermentación de las fuentes de carbohidratos analizadas.

La tabla 3 muestra que todas las cepas evaluadas fueron capaces de crecer en presencia de inulina en el medio de cultivo. La cepa 65 de *Lactobacillus salivarius* fue la que alcanzó mayor crecimiento ($P < 0.01$), por lo que utilizó de forma más eficiente esta fuente de energía en las condiciones impuestas por el medio de cultivo.

Estos resultados sugieren que las bacterias que se estudiaron tienen las enzimas capaces de hidrolizar los enlaces β (2-1) de la inulina, con el consiguiente metabolismo de los monómeros liberados en el medio de cultivo. Muchas investigaciones indican que diferentes especies de *Lactobacillus*, *Streptococcus* y *Bifidobacterium* son capaces de metabolizar fructooligosacáridos e inulina (Ehrmann *et al.* 2003 y Kaplan y Hutkins 2003). En otro estudio, Kaplan y Hutkins (2000) compararon la capacidad de fermentar oligofruktanos entre diferentes bacterias ácido lácticas y encontraron que la mayoría de las especies del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* crecían en presencia del prebiótico.

Hartemink (1999) informó la capacidad del *Lactobacillus salivarius* ssp de fermentar otros oligosacáridos no digestibles, como lactitol, lactulosa, rafinosa y transgalactooligosacárido. Este microorganismo tiene potencialidades para utilizar diferentes fuentes prebióticas, lo que le confiere posibilidades para ser utilizado en la obtención de un producto simbiótico. Otro indicador importante durante la fermentación es el pH del medio (tabla 4), por la producción de ácidos que genera.

Las dos cepas de *Lactobacillus salivarius* lograron la mayor disminución de pH en el medio de cultivo con inulina. La cepa 65 coincidió con mayor crecimiento bacterial. Urias y López (2004) también obtuvieron disminución del pH en el medio de cultivo con Inulina Merk e Inulina Holm, al evaluar *Lactobacillus casei* (0.65 y 0.95, respectivamente) y *Bifidobacterium breve* (0.23 y 0.70, respectivamente).

Diferentes investigadores han planteado que durante

Tabla 1. Crecimiento de microorganismos probióticos con el empleo de la glucosa y la fructosa como fuente energética.

Microorganismos	Densidad óptica glucosa	Densidad óptica fructosa
<i>Lactobacillus salivarius</i> cepa 7	5.09 ^b	2.59 ^a
<i>Lactobacillus salivarius</i> cepa 65	8.46 ^c	7.18 ^c
Mezcla probiótica	2.94 ^a	4.65 ^b
EE ±	0.16***	0.14***

^{abc} Medias con letras diferentes en la misma columna difieren a P<0.05 (Duncan 1955)

*** P<0.001

Tabla 2. Disminución del pH en los medios de cultivo donde se utiliza la glucosa y la fructosa.

Microorganismos	Glucosa	Fructosa
<i>Lactobacillus salivarius</i> cepa 7	0.693 ^b	0.600 ^a
<i>Lactobacillus salivarius</i> cepa 65	0.753 ^c	0.716 ^b
Mezcla probiótica	0.660 ^a	0.706 ^b
EE ±	0.006***	0.004***

^{abc} Medias con letras diferentes en la misma columna difieren a P<0.05 (Duncan 1955)

*** P<0.001

Tabla 3. Crecimiento de bacterias ácido lácticas mediante el uso de la inulina como fuente energética.

Microorganismos	Densidad óptica
<i>Lactobacillus salivarius</i> cepa 7	0.496 ^a
<i>Lactobacillus salivarius</i> cepa 65	1.016 ^c
Mezcla probiótica	0.686 ^b
EE ±	0.044***

^{abc} Medias con letras diferentes en la misma columna difieren a P<0.01 (Duncan 1955)

*** P<0.001

Tabla 4. Capacidad de disminución del pH por los microorganismos probióticos en el medio MRS-inulina.

Microorganismos	Inulina
<i>Lactobacillus salivarius</i> cepa 7	0.746 ^b
<i>Lactobacillus salivarius</i> cepa 65	0.736 ^b
Mezcla probiótica	0.393 ^a
EE ±	0.007***

^{abc} Medias con letras diferentes en la misma columna difieren a P<0.05 (Duncan 1955)

*** P<0.001

potencialmente patógenas, por lo que se generan efectos beneficiosos en el hospedero (Gauthier 2002 y Roe *et al.* 2002).

Los resultados obtenidos permitieron determinar que todas las cepas evaluadas son capaces de utilizar la inulina como fuente energética. La cepa 65 de *Lactobacillus salivarius* fue la de mayor poten-

cialidad Esta cepa podría generar trabajos futuros para la obtención de productos simbióticos, en los que se potenciarían sus efectos.

Referencias

ANALEST 1998. Sistema automatizado para el análisis estadístico. Estadística versión 2.0. Instituto de Ciencia Animal, La Habana, Cuba.

- Bengmark, S. 1998. Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora. *Gut* 42:2
- Brizuela, M. 2003. Selección de cepas de bacterias ácido lácticas para la obtención de un preparado con propiedades probióticas y su evaluación en cerdos. Tesis en opción al grado de Dr. Cs. Vet. Instituto de Ciencia Animal, La Habana.
- Collins, M. & Gibson, G. 1999. Probiotics, prebiotics and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *Am. J. Clin. Nutr.* 69: 1052
- De Mann, J., Rogosa, M. & Sharpe, M. 1960. A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *J Appl. Bacteriol.* 23:130
- Duncan, P.B. 1955. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* 11:1
- Ehrmann, M., Korakli, M. & Vogel, R. 2003. Identification of the gene for beta-fructofuranosidase of *Bifidobacterium lactis* DSM 10140^T and characterization of the enzyme expressed in *Escherichia coli*. *Curr. Microbiol.* 46:391
- Fooks, L., Fuller, R. & Gibson, R. 1999. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. *Int. Dairy J.* 9:53
- García, P., Bretón, I., Compes, C. & Cambor, M. 2002. Metabolismo colónico de la fibra. *Nutrición Hospitalaria* 17:11
- Gauthier, R. 2002. La salud intestinal: clave de la productividad (El caso de los ácidos orgánicos). Segundo Precongreso Científico Avícola IASA. XXVII Convención ANECA-WPDC. Puerto Vallarta. Jalisco, México
- Gibson, G. & Roberfroid, M. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota-introducing the concept of prebiotic. *J. Nutr.* 125: 1401
- Hartemink, R. 1999. Prebiotic effects of non-gigestible oligo- and-polysaccharides. Ph. D.Thesis. Food Microbiology Group. Wageningen Agricultural University. Netherlands.
- Kaplan, H. & Hutkins, R. 2000. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Appl. Env. Microbiol.* 66: 2682
- Revista Cubana de Ciencia Agrícola, Tomo 41, Número 3, 2007.
- Kaplan, H. & Hutkins, R. 2003. Metabolism of fructooligosaccharides by *Lactobacillus paracasei* 1195. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 2217
- Kneifel, W., Rajal, A. & Kulbe, D. 2000. In vitro growth behaviour of probiotic bacteria in culture media with carbohydrates of prebiotic importance. *Microb. Ecol. Health Dis.* 12:27
- Kuwahara, T., Yamashita, A., Hirakawa, H., Nakayama, H, Toh, H., Okada, N., Buhara, S., Hattori, M., Hayashi, T. & Ohishi, Y. 2004. Genomic analysis of *Bacteroides fragilis* reveals extensive DNA inversions regulating cell surface adaptation. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 101: 1491
- Roe, A.J., O'Byrne, C., McLaggan, D. & Booth, I.R. 2002. Inhibition of *Escherichia coli* growth by acetic acid: a problem with methionine biosynthesis and homocysteine toxicity. *Microbiol.* 148:2215
- Schrezenmeir, J. & De Vrese, M. 2001. Probiotics, prebiotics and synbiotics approaching a definition. *Animal J. Clin. Nutr.* 73:361
- Uriás Silva, J. & López, M. 2004. Prebiotic effects of agave fructans. Fifth International Fructan Symposium. Havana. Cuba.
- Van der Meulen, R., Makras, L., Verbrugghe, K., Adriany, T. & De Vuyst, L. 2006. In Vitro kinetic analysis of oligofructosa consumption by *Bacteroides* and *Bifidobacterium* ssp. Indicates different degradation mechanisms. *App. Env. Microbiol.* 72: 1006
- Vijn, I. & Smeekens, S. 1999. More than a reserve carbohydrate. *Plant Physiol.* 120:351
- Warchol, M., Perrin, S., Grill, P. & Schreider, F. 2002. Characterization of a purified beta-fructofuranosidase from *Bifidobacterium infantis* ATCC 15697. *Lett. Appl. Microbiol.* 35: 462

Recibido: 3 de septiembre de 2006.