

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA**

**ANTONIO NARRO**

**DIVISION DE CIENCIA ANIMAL**

**DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**



**PROBIOTICOS Y PREBIOTICOS:  
UNA OPCION PARA EL DESARROLLO DE CONSERVADORES EN  
ALIMENTOS**

**POR:**

**LETICIA GARCIA VILCHIS**

**MONOGRAFIA**

**Presentada como requisito parcial para obtener el título de:  
INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**Buenavista, Saltillo, Coahuila, México**

**Octubre 2014**

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

"ANTONIO NARRO"

DIVISION DE CIENCIA ANIMAL

DEPARTAMENTO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

MONOGRAFIA

Presentada por:

LETICIA GARCIA VILCHIS

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como  
requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Aprobado por:

Dr. Mario Alberto Cruz Hernández

PRESIDENTE

Dra. Dolores Gabriela Martínez Vázquez

SINODAL

Dra. Ruth Elizabeth Belmares Cerda

SINODAL

Dr. Ramiro López Trujillo

COORDINADOR DE LA DIVISION DE CIENCIA ANIMAL

Buenavista Saltillo Coahuila, México



Octubre 2014

## Agradecimiento

**A dios:** Por darme la vida por segunda vez, porque nunca me dejo sola, llevándome de su mano en los momentos más difíciles, por la salud, la fortaleza en cada momento de mi vida, y poner en mi camino a personas tan generosas, que me apoyaron incondicionalmente y por permitirme llevar y culminar este trabajo.

**A mi “Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro:** Gracias universidad, por brindarme los conocimientos y herramientas necesarias, para así aplicarlas y poder llevarlas a cabo en la sociedad, y por apoyarme cuando más lo necesite, en una prueba muy difícil de mi vida. Y sobre todo por tu lema que no olvidare “Alma Terra Mater”.

**A mis asesores:** De manera especial al **Dr. Mario Alberto Cruz Hernández;** principalmente, ya que gracias a su apoyo moral, pude sacar adelante esta monografía **a la Dra. Dolores Gabriela Martínez Vázquez y a la Dra. Ruth Elizabeth Belmares Cerda.** Gracias por brindarme su atención, tiempo, pero sobre todo su apoyo, durante el transcurso de este trabajo.

**A mis padres: Tomasa Vilchis García y Crisanto García Avelino:** Gracias por su apoyo moral, por sus consejos que siempre me orientaron por el camino correcto y me enseñaron los principios de respeto, y de servir a la sociedad.

**A mi abuelita: Aurelia García Rebollar:** A ella en especial; porque me ayudo a seguir adelante, cuando no obedecía, con regaños a veces, pero sabiendo que era por mi bien para ser una persona de bien, sobre todo estudiosa y llegar hacer alguien en la vida; mil gracias y con todo el respeto que ella se merece.

**A mis hermanos: Omar García Vilchis, Crisanto García Vilchis:** Gracias por su comprensión, apoyo, cariño, y sobre todo porque más que hermanos fueron mis amigos, por tenderme la mano cuando lo necesite.

**A mi esposo: Nicolás de la Cruz Segundo:** Gracias a él pude sacar este trabajo, por su apoyo económico, pero sobre todo su apoyo moral y por creer en mí, y más que nada por mi pequeño hijo **Emmanuel de la Cruz García,**

porque siempre fueron y serán el motor que me impulse a seguir adelante en esta vida, que no es nada fácil.

**A mis profesores: Dr. Mario Alberto Cruz Hernández, Dra. Dolores Gabriela Martínez Vázquez, Dra. Ana Verónica Charles Rodríguez, Dra. Ma. Lourdes Morales Caballero, M.C. Mildred Inna Verastegui, M.C. María Hernández González, Carmen Pérez Martínez, Dr. Heliodoro de la Garza Toledo, Lic. Laura Olivia Fuentes Lara, Químico Oscar Noé Reboloso, QFB. Xóchitl Ruelas Chacón y a todos y cada uno de los docentes que me impartieron clases que con mucho agradecimiento, respeto y sobre todo orgullo los recordare.** Gracias por formar a profesionistas, dedicando su tiempo, paciencia, esfuerzo con un propósito en común; para formar gente profesional, responsable y capaz para enfrentar nuevos retos en el campo laboral.

**Todos y cada una de las personas que laboran en la universidad administrativos, académicos, pilotos de transporte, comedor, trabajadores de la biblioteca, centro de cómputo e internado:** Gracias por su apoyo, porque de una u otra manera me brindaron su apoyo cuanto lo requerí. En especial a la **Lic. Dora Elia, encargada del internado femenino y al Ing. Edgar Mandujano, jefe de servicios asistenciales;** a ellos dos por permitirme tener una bonita amistad, pero sobre todo porque me apoyaron durante mi estancia en la institución..

**INDICE GENERAL**

**Agradecimiento.....3**

**Índice general.....5**

**Índice de cuadros.....9**

**Índice de figuras.....10**

**Resumen.....11**

**Capítulo 1.....12**

**1.1 Introducción.....12**

**1.2 Objetivo.....18**

**1.3 Justificación.....18**

**Capítulo 2.....19**

**2.1 Revisión de literatura.....19**

**2.1.1 Alimentos Funcionales.....19**

**2.1.2 Características generales de los Alimentos Funcionales.....19**

**2.1.3 Alimentos funcionales, ejemplos de (AF) y cáncer.....20**

**2.1.4 Fibra en alimentos.....21**

**2.1.5 Importancia de la Fibra.....22**

**2.1.6 Tipos de fibra e importancia en el hospedero.....22**

**2.1.6.1 Fibra insoluble.....22**

**2.1.6.2 Fibra soluble.....23**

**2.1.7 Efectos y beneficios esperados de los Alimentos Funcionales.....23**

**2.1.8 Efectos y beneficios esperados de los (AF) en mujeres embarazadas.....24**

**2.2 Probióticos.....25**

**2.2.1 Propiedades generales de los Probióticos.....26**

**2.2.2 Modo de acción y Bioseguridad de los probióticos.....26**

**2.2.3 Capacidad antimicrobiana de cepas probióticas.....28**

2.2.4	Actividad $\beta$ – Galactosidasa.....	29
2.2.5	Estimulación del sistema inmune.....	29
2.2.5.1	Modulación del sistema inmunológico.....	30
2.2.5.2	<i>Lactobacillus GG</i> Probiótico.....	30
2,2.5.2.1	Propiedades de <i>Laactobacillus</i> .....	30
2.2.5.3	Reducción de cáncer de colón.....	31
2.2.5.4	Disminución de la intolerancia a la lactosa.....	31
2.2.6	Viabilidad de organismos probióticos.....	32
2.2.7	Efectos benéficos generales en el hospedero.....	32
2.2.7.1	Importancia de aplicación de probióticos en pediatría.....	33
2.2.8	Propiedades y funciones del probiótico para considerarse como BAL.....	34
2.2.9	Administración y consumo de los probióticos.....	35
2.3	Prebióticos.....	38
2.3.1	Aplicaciones de prebióticos y efectos en el hospedero.....	38
2.3.2	Importancia general de la fibra dietética como prebiótico.....	39
2.3.3	Clasificación de diferentes tipos de fibra prebiótica.....	41
2.3.3.1	inulina.....	41
2.3.3.2	Oligofruktosa.....	41
2.3.3.3	Polídextrosa.....	42
2.3.3.4	Galacto-oligosácaridos.....	42
2.3.3.5	Sustancias pécticas .....	42
2.3.4	Aspectos Saludables de los Prebióticos en el hospedero.....	43
2.3.5	Grasas.....	43
2.3.6	Aminoácidos y clasificación.....	44
2.3.6.1	Arginina.....	44
2.3.6.2	Glutamina.....	44
2.3.6.3	Cisteína.....	44
2.3.7	Micronutrientes (Vitaminas).....	45
2.3.7.1	Vitamina C.....	45

2.3.7.2	Vitamina E.....	45
2.3.7.3	Vitamina A.....	45
2.3.8	Minerales (Oligoelementos).....	46
2.3.8.1	Selenio.....	46
2.3.8.2	Calcio.....	46
2.3.8.3	Hierro.....	46
2.3.8.4	Magnesio.....	46
2.3.8.5	Zinc.....	47
2.3.9	Fitoquimicos.....	47
2.4	Características generales de los prebióticos como ingrediente alimenticio.....	48
2.5	Efectos benéficos en el hospedero generales.....	48
2.6	Importancia general del Aloe Vera .....	48
2.6.1	Propiedad importante del Jugo del Aloe Vera como Prebiótico y/o Simbiótico en Alimentos.....	49
2.7	Características generales del Agave salmiana.....	50
2.7.1	Agave salmiana importancia como prebiótico.....	50
2.7.2	Importancia del aguamiel en la industria alimentaria.....	52
2.8	Simbióticos.....	53
2.8.1	Características generales.....	53
2.8.2	Ejemplos de alimentos simbióticos e importancia.....	55
2.9	Bacterias Acido Lácticas (BAL).....	56
2.9.1	Características generales.....	57
2.10	Hábitat de las BAL.....	58
2.10.1	Importancia de las BAL.....	58
2.11	Rutas metabólicas principales de degradación de azúcares por BAL.....	61
2.11.1	Vía homofermentativa.....	61
2.11.2	Vía fosfogluconato.....	62
2.12	Factores de crecimiento de BAL.....	62
2.12.1	Temperatura.....	63
2.12.2	Oxigeno y pH.....	63

<b>2.12.3 Medios de Cultivo.....</b>	<b>63</b>
<b>2.13 Agar MRS.....</b>	<b>64</b>
<b>2.14 Importancia industrial de bacterias lácticas como conservadores de alimentos.....</b>	<b>64</b>
<b>2.14.1 Uso de BAL en leches fermentadas y otros alimentos.....</b>	<b>67</b>
<b>2.15 Bacteriocinas producidas por bacterias lácticas.....</b>	<b>70</b>
<b>2.15.1 Definición y características de bacteriocinas.....</b>	<b>70</b>
<b>2.16 Importancia de las bacteriocinas.....</b>	<b>72</b>
<b>2.17 Bacteriocinas como conservadores de alimentos.....</b>	<b>72</b>
<b>2.18 Clasificación de bacteriocinas.....</b>	<b>73</b>
<b>2.18.1 Mecanismo bactericida de bacteriocinas.....</b>	<b>75</b>
<b>2.18.2 Estabilidad.....</b>	<b>76</b>
<b>2.18.3 Espectro de inhibición.....</b>	<b>76</b>
<b>2.19 Antecedentes de bacteriocinas .....</b>	<b>76</b>
<b>2.19.1 Importancia de la Nisina en la conservación de alimentos.....</b>	<b>77</b>
<b>2.20 Técnicas de producción y purificación de bacteriocinas.....</b>	<b>79</b>
<b>2.20.1 Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por bacteriocinas.....</b>	<b>80</b>
<b>2.20.2 Antibiogramas.....</b>	<b>80</b>
<b>2.20.3 Métodos enzimáticos.....</b>	<b>80</b>
<b>Capítulo 3.</b>	
<b>3.1 Conclusión.....</b>	<b>81</b>
<b>Capítulo 4.</b>	
<b>4.1 Recomendaciones.....</b>	<b>82</b>
<b>Capítulo 5.</b>	
<b>5.1 Referencias Bibliográficas.....</b>	<b>83</b>

**INDICE DE CUADROS**

**Cuadro 1. Tipos de Alimentos Funcionales y sus efectos en el organismo del hospedero.....24**

**Cuadro 2. Microorganismos probióticos y estatus de seguridad.....28**

**Cuadro 3. Ejemplos de especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* con efecto probiótico.....37**

**Cuadro 4. Propiedades y efectos asociados a la fibra dietética.....40**

**Cuadro 5. Funciones básicas de la microbiota intestinal y su posible optimización mediante el uso de prebióticos.....47**

**Cuadro 6. Balance de fermentación representativa de dos bacterias del ácido láctico homofermentativas y heterofermentativas.....60**

**Cuadro 7. Aplicación de las bacterias lácticas para incrementar la vida media de la carne fresca y productos cárnicos.....66**

**Cuadro 8. Cuadro 8. Bacterias ácido lácticas utilizadas en la elaboración de productos lácteos.....68**

**Cuadro 9. Aplicaciones de las principales especies de bacterias lácticas en alimentos.....70**

**Cuadro 10. Bacteriocinas de bacterias ácido lácticas (BAL).....73**

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1. Mecanismo de acción desplegado por bacterias probióticas...</b>	<b>27</b>
<b>Figura 2. Forma celular de dos géneros de bacterias probióticas. <i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001 y <i>Bifidobacterium lactis</i> HN019.....</b>	<b>30</b>
<b>Figura 3. Colonización de bacterias eubióticas en el intestino humano...</b>	<b>54</b>
<b>Figura 4. Forma y disposición de las células en tres géneros de bacterias del ácido láctico, <i>Lactobacillus</i>, <i>Streptococcus</i> y <i>Pediococcus</i>.....</b>	<b>58</b>
<b>Figura 5. Vía Emden-Meyerhof-Parnas.....</b>	<b>61</b>
<b>Figura 6. Ruta de las pentosas fosfato o del fosfogluconato.....</b>	<b>63</b>
<b>Figura 7. Modo de acción de diferentes clases de bacteriocitas.....</b>	<b>77</b>
<b>Figura 8. Estructura primaria de la nisina, bacteriocina de la clase A.....</b>	<b>79</b>

## RESUMEN

Proveer al consumidor de alimentos funcionales que, además de su valor nutritivo intrínseco, ayudan a mantener el estado de salud general del organismo y a la vez pueda tener un efecto benéfico adicional, terapéutico o preventivo en el huésped. Productos que además de nutrir, produzcan efectos favorables a la salud y lo más naturales posibles es un reto para la industria alimentaria, y los alimentos funcionales son los protagonistas para propiciar dichas ventajas. En la diversidad de los alimentos funcionales se encuentran los probióticos, que son microorganismos vivos que tras ser ingeridos en cantidades adecuadas, favorecen el desarrollo de la flora bacteriana en el intestino. En cuanto a los prebióticos son ingredientes no digeribles que estimulan el crecimiento de bacterias en el colon y los simbióticos son la combinación de los probióticos y prebióticos que al unirse se potencia la actividad y desarrollo de las bacterias en el colon. Dichas alternativas que se han considerado de suma importancia es el estudio de bacterias ácido lácticas (BAL) microorganismos con potencial industrial denominados “probióticos” que al ser ingeridos en cantidades suficientes y adecuadas son benéficas para el hospedero, evitando así el desarrollo de enfermedades, mejorando la microflora intestinal, utilizadas en la industria como cultivos iniciadores que mejoran la calidad sensorial de productos lácteos. Son productoras de metabolitos con actividad antimicrobiana (peróxido de hidrógeno, ácido láctico, ácido cético, bacteriocinas) designadas con categoría GRAS (seguras para la salud) que limitan el crecimiento de algunas bacterias patógenas e indeseables, siendo estas inocuas y sin provocar alteraciones en los alimentos. Por lo anterior se ha implementado la búsqueda de cómo contrarrestar el uso de conservadores químicos en alimentos, una alternativa en la ampliación de bioconservadores en alimentos como las bacteriocinas producidas por bacterias lácticas, que tienen capacidad de inhibir bacterias patógenas, siendo inofensivas en el organismo humano; además contribuyen a la prevención de la descomposición de alimentos y el desarrollo de microorganismos patógenos.

**Palabras clave:** Bacterias ácido lácticas (BAL), Alimentos Funcionales, Probióticos, Prebióticos, Simbióticos, Bacteriocinas e inhibición.

## Capítulo 1

### 1.1 Introducción

A través de la historia, el hombre ha dado sin saberlo diversos usos a las bacterias lácticas, las cuales se han empleado antiguamente en la elaboración de algunos alimentos como los productos fermentados heredando por generaciones el conocimiento del proceso de la fermentación. (Palou and Serra 2000).

En la actualidad, el concepto de nutrición ha evolucionado notablemente gracias a la investigación constante y al crecimiento de la información disponible. La prevención de enfermedades crónicas no transmisibles se ha convertido en el foco de interés tanto desde la Salud Pública como desde la investigación y la tecnología. En este marco nacen los Alimentos Funcionales, (AF) son alimentos en los que algunos de sus componentes afectan funciones del organismo de manera específica y positiva, promoviendo un efecto fisiológico o psicológico más allá de su valor nutritivo tradicional.

De modo que se ha incrementado el consumo de alimentos funcionales, y por esta tendencia actual, los consumidores ahora buscan alimentos que aporten un beneficio a la salud, más allá del aspecto nutritivo. La alteración de los alimentos propiciada por la actividad de los microorganismos patógenos, ocasiona un cambio en las características organolépticas, con degradación de algunos de los componentes acompañados de la formación de compuestos impropios del producto; por este motivo, la investigación ha tratado nuevas propuestas para retardar el deterioro de los alimentos y evitar el desarrollo de estos microorganismos.

Los Alimentos Funcionales según la Academia Nacional de Ciencias (EEUU), han definido como “Alimentos o ingredientes modificados que tienen un impacto positivo sobre la salud del individuo e incrementan el bienestar del mismo y así disminuir los riesgos de enfermedades”. Dicho efecto puede contribuir a la existencia de la salud y bienestar, a la disminución del riesgo de enfermar, o ambas cosas.

Por lo anterior se han aplicado bioconservadores naturales u orgánicos en los alimentos con el fin de disminuir el uso de preservantes químicos y procesados que tienen efectos nocivos en la salud del consumidor; por ejemplo nitritos y nitratos que causan la formación endógena de N-nitrocompuestos, que son cancerígenos como las nitrosaminas compuestos altamente peligrosos para la salud del hombre. (Almudena A. y col., 2001).

Actualmente el ser humano se enfrenta a enfermedades que afectan su salud gastrointestinal, y la mayoría de ellas relacionadas con bacterias patógenas, en este sentido la industria alimentaria tiene como objetivo o reto el hacer llegar a los consumidores productos que aporten nutrimentos y proporcionen beneficios a la salud como son los probióticos, prebióticos y simbióticos. Entre la diversidad de productos distribuidos en el mercado, destacan los alimentos lácteos enriquecidos con probióticos.

En la diversidad de los alimentos funcionales se encuentran los probióticos, que son microorganismos vivos que ingeridos en cantidades adecuadas favorecen el desarrollo de la flora bacteriana en el intestino. Los prebióticos son ingredientes no digeribles que estimulan el crecimiento de bacterias en el colon y los simbióticos son la combinación de los probióticos y prebióticos que al unirse se potencia la actividad y desarrollo de las bacterias en el colon.

Los probióticos han sido utilizados históricamente por el hombre para conservar y procesar alimentos, pero fue recién a principios del siglo pasado cuando comenzaron a enunciarse las funciones positivas de algunas especies de bacterias sobre el cuerpo humano. La información analizada permite inferir que el consumo diario de productos con probióticos y simbióticos a lo largo del tiempo, brindaría beneficios nutricionales adicionales y mejoraría el estado de salud, y en determinados casos, colaboraría con la prevención de ciertas enfermedades, todo ello, junto con una alimentación equilibrada y diversificada.

En el año de 1965 Lilly y Stilwell definen al término “Probiótico”, y lo utilizan para describir a las sustancias secretadas por un microorganismo que estimula el crecimiento del otro. Así mismo en 1989 Fuller, definió a un “probiótico” como

cualquier sustancia viva. Parker en 1974, fue el primero en usar el término probiótico en el sentido que se le da actualmente.

También se han definido de la siguiente manera: “una preparación de, o un producto conteniendo, unos microorganismos definidos, viables y en suficiente cantidad para alterar la microbiota de un compartimento del huésped y ejercer efectos beneficiosos para la salud de este huésped” (Schrezenmeir y col., 2001).

Años más tarde Tissier en 1984, recomendaba la administración de bifidobacterias a los niños que sufrían diarreas, afirmando que estas bacterias podían desplazar a las bacterias putrefactivas que causaban la enfermedad, lo que más tarde fue demostrado, de que eran la microbiota predominante en el intestino de niños alimentados con leche materna, y fue así que definió a los probióticos como **“organismos y sustancias que contribuyen al balance microbiano intestinal”**.

El interés científico sobre estas bacterias probióticas como agentes protectores frente a diferentes enfermedades, surge en la observación de Metchnikoff, quien a principios del siglo XX remarcó la longevidad y buena salud de los campesinos búlgaros, que consumían grandes cantidades de yogur (Álvarez and Oberthelmann, 2001).

Una característica de los probióticos es la capacidad de producir bacteriocinas, proteínas de síntesis ribosomal que tienen la particularidad de inhibir a otras bacterias, principalmente patógenas.

Cabe destacar que actualmente la definición que es utilizada y emitida por la FAO y la OMS, de probiótico es: **“son organismos vivos que al ser administrados en cantidades adecuadas proporcionan o generan efectos benéficos a la salud del organismo del huésped”**. También se les ha definido “son un grupo de microorganismos que incluyen bacterias no patógenas fermentativas, no tóxicas, Gram positivas, que se asocian a la producción de ácido láctico a partir de carbohidratos”, por lo que son útiles en la industria alimentaria (FAO/WHO 200).

Por otra parte los “prebióticos” fueron introducidos por Gibson y Roberfroid en 1995, definiéndolos como moléculas fermentables que poseen un efecto favorable sobre la microbiota intestinal; además son componentes no vivos que se encuentran en los alimentos y que aportan un beneficio en la salud, asociado con la modulación de la microbiota (FAO 2011), dichas moléculas como los (fructo y galacto oligosacáridos, incluida la fibra dietética), denominadas prebióticos que pueden añadirse a un alimento (Amores y col., 2004).

En 1976 Trowel describió a los prebióticos como compuestos de origen vegetal, constituidos por macromoléculas no digeribles, dado que las enzimas del intestino humano no pueden hidrolizarlas.

Actualmente el término prebiótico se define de la siguiente manera: **“componentes o ingredientes no vivos ni digeribles que se encuentran en los alimentos, que ejercen acciones favorables sobre el organismo al fomentar el crecimiento de microorganismos para la salud”** (FAO 2011).

Así mismo existen otros alimentos funcionales llamados simbióticos, que es la combinación de prebióticos + probióticos los cuales mejoran la sobrevivencia y la implantación de suplementos dietéticos de microbios vivos en el tracto gastrointestinal; su ventaja es la adición microbiana viva propia del probiótico con una sustancia específica para el crecimiento.

Por otro lado en 1857 las bacterias ácidos lácticas (BAL) fueron descubiertas por Louis Pasteur, desde entonces el término fue descrito como “Organismos de la leche agria”. Ejemplos: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Carnobacterium*, *Aerococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Oenococcus* y *Weissella*; son los principales géneros que pertenecen a este grupo de microorganismos, los cuales se han llegado a considerar como cosmopolitas; el cual fue utilizado durante mucho tiempo.

Joseph Lister en 1873; quien obtuvo el primer cultivo puro de bacterias de una leche fermentada y lo llamó “*Bacterium lactis*”. Años más tarde en 1892, Doderlein propuso que las bacterias vaginales producían ácido láctico, lo que

inhibía el crecimiento de bacterias patógenas. El término “Bacterium acidi lactici” se debe a Weigmamn que lo propuso en 1889 al definir las como bacterias que forman leche ácida a partir de azúcar de la leche (Fernández, 2000; Jay, 2000).

Por lo anterior, desde el comienzo de la humanidad las Bacterias ácido lácticas (BAL), han sido empleadas para la fabricación y conservación de alimentos. El descubrimiento de su acción sobre la leche fue probablemente accidental, pero su utilización fue aplicada en forma de cultivos iniciadores, mediante una simple recuperación de una parte del medio de fermentación para promoverla en otros alimentos y bebidas además de que contribuyen a desarrollar sabor, aroma, así como a retardar su deterioro (Gilliland, 1990).

Estas forman parte de la microbiota natural de muchos alimentos y no existe ninguna indicación de que representen un riesgo para la salud del consumidor, por lo tanto las BAL como algunos metabolitos son considerados como GRAS (Generally Recognized As Safe) por la FDA (Food and Drug Administration) de EEUU (Hugas, 1998).

Lo más significativo de estas bacterias ácido lácticas, además de ser los responsables de la fermentación de diversos alimentos, así como su capacidad para ayudar en la conservación de alimentos, puesto que producen ácido láctico, agentes antimicrobianos como son: (ácidos orgánicos, etanol, peróxido de hidrógeno, diacetilo, **bacteriocinas** y otros metabolitos) designadas como GRAS, de importancia industrial; estas pueden evitar el desarrollo de microorganismos deterioradores, así como lograr la inhibición de microorganismos patógenos e indeseables, como es el caso de *Salmonella*, *E.coli* entre otros, los cuales son de gran importancia en la salud pública debido a los brotes de infecciones e intoxicaciones generados por el consumo de alimentos contaminados con estas bacterias.

La capacidad antibacteriana que presentan las BAL al evitar el desarrollo de microorganismos deterioradores y/o patógenos, ha motivado la investigación acerca de este tema para tratar de incrementar la calidad higiénica de los

alimento; así como para conservar los alimentos y mantener sus características sensoriales. (Parvez y col., 2006; Axelsson, 1998).

Las **bacteriocinas** son péptidos antimicrobianos con capacidad de inhibir microorganismos patógenos que perjudican la salud humana, ya que presentan una excelente estrategia para el control de bacterias como: *Salmonella*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* entre otros. (De la Fuente, 2009).

La actividad antimicrobiana de las bacteriocinas, está asociada con el efecto antagonista por atracción electrostática a la membrana citoplasmática de la célula microbiana; a través de receptores iónicos formando poros seguido de provocar lisis celular y pérdida de actividad. Péptidos pertenecientes al grupo II (no abióticos), de la clase IIa poseen propiedades como la resistencia térmica, característica de interés que puede aplicarse en la extensión de la vida de anaquel de los alimentos; en conjunto con métodos térmicos de conservación evitando su deterioro y descomposición (Minor, 2004). La garantía de las bacteriocinas son seguras y que no causan daños en la salud del consumidor; ya que al ser ingeridas son destruidas por enzimas proteolíticas digestivas en el organismo humano.

Un claro ejemplo de estos metabolitos es la Nisina producida por *Lactococcus lactis* (BAL), actualmente utilizada en más de 50 países con una efectividad comprobada y autorizada por la FDA como bioconservadores de alimentos sometido a tratamientos térmicos en condiciones térmicas y bajo pH.

La tendencia actual va más allá de alimentos que aporten nutrimentos, ahora se requiere que dichos alimentos causen beneficios al consumidor. Los científicos han realizado estudios para determinar los compuestos naturales con propiedades probióticas y prebióticas.

Según lo acordado en la FAO/OMS en la Conferencia Internacional celebrada en Roma en 1992, la seguridad alimentaria se define como la capacidad de acceder a los alimentos necesarios para mantener al organismo dentro de un estado saludable (Bello, 2005).

## **1.2 Objetivo general.**

La razón principal de la presente investigación, es dar a conocer alternativas para la bioconservación de alimentos a la industria alimentaria; debido a que existe gran interés científico e industrial en la sustitución de conservadores químicos por conservadores biológicos; que permitan satisfacer las exigencias del consumidor tendientes al consumo de productos naturales y mínimamente procesados y sobre todo inocuos para la salud humana. Es necesario destacar que el mercado de alimentos funcionales se encuentra en pleno desarrollo y día a día se conocen mejor los mecanismos de acción de cada componente. Para establecer mayor confianza en su consumo y poder acercarse a la recomendación óptima con su validación científica.

## **1.3 Justificación**

En el presente trabajo se pretende ofrecer información, que puede resultar valiosa e interesante para lectores; sean consumidores interesados, así como lectores especializados en el tema de probióticos y prebióticos que da hincapié de manera general en la conservación de alimentos y la relación con la salud del ser humano. Haciendo un repaso general de la funcionalidad e importancia de los distintos alimentos prebióticos, probióticos, alimentos funcionales, productos lácteos, simbióticos entre otros.

Debido a que en la actualidad existe una gran preocupación por la salud y se reconoce a la alimentación adecuada que va más allá del aspecto nutritivo; sino que se ha un instrumento de protección de la salud y prevención de enfermedades.

Puesto que la alimentación es un factor importante a la salud, resulta bastante lógico exigir, que todos los alimentos integrados en la alimentación deban corresponder a la consideración de sanos y seguros, para que su consumo no presente un riesgo o daño para el hombre, sino por el contrario, ofrezcan garantías de seguridad. No se trata únicamente de que reduzcamos los alimentos cuyo exceso puede ser perjudicial para nuestra salud, sino de buscar aquellos que tengan beneficios saludables e inclusive nos ayuden a retrasar la aparición de algunas enfermedades.

## Capítulo 2

### 2.1 Revisión de literatura

#### 2.1.1 Alimentos Funcionales

El término “Alimento Funcional” según el Comité de Alimentos y Nutrición (FNB) de la Academia Nacional de Ciencias es definido como aquel alimento, que abarca productos saludables, incluyendo a cualquier alimento modificado o ingrediente de un alimento que provee un beneficio a la salud más allá de los nutrientes tradicionales.

Los alimentos funcionales, también son aquellos que, además de satisfacer las necesidades nutricionales básicas, proporcionan beneficios para la salud (Stanton y col., 2001). Generalmente son considerados como aquellos alimentos previstos de componentes biológicamente activos y pueden ser incluidos como parte de la dieta normal. Dentro de la gran gama encontramos a los prebióticos, probióticos, simbióticos, fibra entre otros.

#### 2.1.2 Características generales de los Alimentos Funcionales

- ✓ Es necesario que ejerzan un efecto benéfico al consumirse como alimento, dentro de una dieta convencional y en la cantidad en que habitualmente es ingerido.
- ✓ Incluye a los denominados nutracéuticos.
- ✓ Alimentos convencionales que naturalmente cuentan con sustancias bioactivas. Siendo la fibra dietética la más común.
- ✓ Alimentos enriquecidos con sustancias bioactivas: Antioxidantes, probióticos, prebióticos, fibra soluble, omega 3, grasas poli-insaturadas, ácido linoleico, vitaminas, minerales, algunas proteínas, péptidos, aminoácidos, fosfolípidos entre otros (Aranceta Bartina J., Serra Maiem L., y Marcos Sánchez, 2002).

### 2.1.3 Alimentos Funcionales, ejemplos de (AF) y cáncer

La búsqueda de una relación clara, no ambigua, entre el consumo de ciertos alimentos y la aparición o la prevención de diferentes tipos de cáncer, es desde luego antigua. Epidemiológicamente, existen diferentes vías de estudio que parecen prometedoras al respecto, (Minor Pérez, 2004).

#### Ejemplos de Alimentos Funcionales para la prevención de cáncer

- ✚ **Productos lácteos:** Cáncer colorrectal (especialmente prebióticos relacionados)
- ✚ **Carnes:** Un ácido graso aislado de la carne de vacuno cocinada podría ser anticanceroso (el ácido linoléico conjugado).
- ✚ **Semillas:** Hay un creciente interés en compuestos ligados a la fibra como los lignanos, tal vez tenga un lugar en la prevención de tumores dependientes de estrógenos (roedores, disminuyen la incidencia de tumores de colon, pulmón y mama).
- ✚ **Soja:** Algunos de sus componentes se han identificado como antitumorales, fitosteroles, saponinas, ácidos fenólicos, ácido fitico y especialmente las isoflavonas (genisteína y daidzeína), unos compuestos fenólicos heterocíclicos con una estructura similar a la de los estrógenos.
- ✚ **Tomate:** El licopeno (carotenoide) tendría un potencial efecto anticanceroso, sobre todo en el de próstata. (Torres, 2003), ya que el licopeno es el carotenoide más abundante en la propia próstata, así mismo podría actuar en tumores de piel, mama, aparato digestivo, cérvix y vejiga.
- ✚ **Ajo:** Los componentes del ajo han sido investigados en relación con numerosos procesos cancerosos, especialmente el del aparato digestivo.

- ✚ **Te:** Los polifenoles constituyen más del 30% del peso seco de las hojas frescas de té, las catequinas, su consumo se relaciona con la prevención del cáncer de mama. (Rodríguez Gómez, 2006).
- ✚ **Crucíferas:** Su poder anticanceroso (brécol, sobre todo), se debería al contenido de estos vegetales en glucosinolatos. La enzima mirosinasa hidroliza estos productos en isotiocianatos e índoles de posible acción preventiva en cánceres estrogendependientes.
- ✚ **Cítricos:** Los limonoides actuarían junto con la vitamina C, los fosfatos y la fibra de estas frutas.

#### 2.1.4 Fibra en alimentos

El concepto fibra se define como: “los constituyentes de la pared de la célula vegetal, resistentes a las enzimas del tracto digestivo humano”. Este concepto engloba a la celulosa, hemicelulosa y lignina, componentes de la pared celular de las plantas, que al no ser digeridas eran capaces de incrementar el volumen de los contenidos intestinales, facilitando el tránsito intestinal y por tanto la evacuación de las heces; este sentido, el consumo de alimentos ricos en fibra era muy útil para prevenir el estreñimiento.

Así mismo, Burkitt y Trowell adoptan un término más amplio para la fibra, debido a que diversos estudios epidemiológicos encuentran una correlación entre el consumo de determinados alimentos no digeribles y la disminución de ciertas patologías, como el estreñimiento, la obesidad, la diabetes, la enfermedad coronaria e incluso algunos tipos de cáncer. Posteriormente en 1976 estos dos estudiosos definen el concepto de fibra dietética, como: “el remanente de los componentes de la planta que son resistentes a la hidrólisis por las enzimas intestinales humanas”, además de que engloban a los componentes de la pared celular del vegetal, pero también a otros carbohidratos presentes en las plantas como las pectinas, gomas y los mucílagos, responsables en gran medida de los efectos beneficiosos en la prevención de las “enfermedades de la opulencia”. Así mismo la fibra es resistente a las enzimas intestinales, pero puede ser fermentada por las

bacterias presentes en el intestino grueso, esta fermentación es muy importante para la homeostasis colónica.

### **2.1.5 Importancia de la Fibra**

En este tema radican dos intereses de suma importancia:

1. La fermentación es realizada por la flora saprofítica, como *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*, por lo que la presencia de fibra permitirá el crecimiento de esta microbiota buena, para así detener el detrimento (daño) de bacterias patógenas.
2. Su fermentación origina (AGCC), especialmente el butirato, que constituye la fundamental fuente de energía del colonocito.

Puesto a estos nuevos descubrimientos, en el año 2001, la American Association of Cereal Chemist, propuso un nuevo concepto de fibra dietética funcional, definiéndola como “la parte comestible de las plantas o hidratos de carbono análogos que son resistentes a la digestión y absorción en el intestino delgado, con fermentación completa o parcial en el intestino grueso”.

La fibra engloba polisacáridos, oligosacáridos, lignina y sustancias asociadas a la planta. Las fibras dietéticas promueven efectos beneficiosos fisiológicos como el laxante, y/o atenúan los niveles de colesterol en sangre y la glucosa en sangre.

### **2.1.6 Tipos de fibra e importancia en el hospedero**

#### **2.1.6.1 Fibra insoluble.**

Está integrada por sustancias (celulosa, hemicelulosa, lignina y almidón resistente) que no se disuelven en agua. Este tipo de fibra predomina en alimentos como el salvado de trigo, granos enteros y las verduras. Los componentes de este tipo de fibra resisten la acción de los microorganismos del intestino. Su principal efecto en el organismo es disminuir el tiempo de tránsito de los alimentos y las heces a través del tubo digestivo. Como consecuencia, este tipo de fibra, al ingerirse diariamente, facilita las deposiciones y previene el estreñimiento.

### **2.1.6.2 Fibra soluble.**

Está formada por componentes: inulina, pectinas, gomas y fructooligosacáridos solubles en agua y con capacidad de formar geles que confieren volumen a las heces. Sus componentes son utilizadas por los microorganismos intestinales. Este tipo de fibra predomina en las legumbres, en los cereales (avena y cebada) y en algunas frutas. La presencia de la fibra soluble en la dieta, acompañada de bajas cantidades de grasa, contribuye a regular los niveles de colesterol sanguíneos. Además, este tipo de fibra puede regular la velocidad de absorción intestinal de los azúcares procedentes de los alimentos.

### **2.1.7 Efectos y beneficios esperados de los Alimentos Funcionales**

Estudios clínicos han demostrado efectos positivos a la salud como: reducción de cáncer, estimulación y mejoramiento del sistema inmune, disminución de síntomas menopáusicos, mantenimiento de la salud del tracto gastrointestinal y urinario, efectos anti-inflamatorios, reducción de la presión arterial, reducción de osteoporosis, por añadidura proteger el páncreas, corazón y cerebro, efectos anti obesidad, además de intervenir como preventivo en algunos tipos de cáncer e incluso en el enlentecimiento del envejecimiento neural, derivados de diversos procesos oxidativos. (Aranceta Bartina J., Serra Maiem L., y Marcos Sánchez, 2002). **(Cuadro 1)**.

**Cuadro 1. Tipos de Alimentos Funcionales y sus efectos en el organismo**

<b>Alimento funcional</b>	<b>Efectos</b>	<b>Ejemplos</b>
<b>Probióticos</b>	Mejoran la función intestinal	Lactobacilos y Bifidobacterias (yogures bio)
<b>Prebióticos</b>	Favorecen el crecimiento de las bacterias intestinales benéficas	Fructo- oligosacáridos (cereales integrales)
<b>Vitaminas</b>	Reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares y osteoporosis	Vitaminas (B6, B12), ácido fólico, vitamina D y vitamina K
<b>Minerales</b>	Reducen el riesgo de osteoporosis y fortalecen el sistema inmune	Calcio, magnesio, y zinc. (Productos lácteos)
<b>Antioxidantes</b>	Reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares y desarrollo de tumores	Vitamina C y E, carotenos, Flavonoides y Polifenoles (Zumos)
<b>Ácidos grasos</b>	Reducen el riesgo de enfermedades cardiovasculares y desarrollo de tumores y reducen los síntomas de menopausia	Ácidos grasos Omega 3. (Lácteos, huevos). Ácido linoléico
<b>Fitoquímicos</b>	Reducen los niveles de colesterol y los síntomas de menopausia	Fitoesteroles, isoflavonas y lignina.(Margarinas y lácteos)

Silveira y cols., 2003.

### **2.1.8 Efectos y beneficios esperados de los (AF) en mujeres embarazadas**

Además de lo mencionado anteriormente, cabe destacar que debe ser posible reponer déficits de determinadas sustancias, en el organismo de las embarazadas y del feto.

Un claro ejemplo sería el ácido fólico, y de alimentos enriquecidos, muy útiles para prevenir anemias megaloblásticas y las alteraciones del tubo neural en el

recién nacido, dado que los folatos son requeridos durante la división celular; un ejemplo necesario es el yodo, para el gestante y salud del futuro bebé.

El ácido fólico se encuentra en verduras y hortalizas verdes como: (brécol, espinacas, espárragos y guisantes entre otros) en cereales integrales, hígado y huevo, y leche. Aunque se han adicionado leches enriquecidas con ácido fólico no se ha hecho en cantidad suficiente; es decir no se puede comparar con algún suplemento (comprimido o capsula) prescrito por un médico.

## 2.2 Probióticos

El término “probiótico” se deriva de dos vocablos, del latín –pro- que significa por o a favor de, y del griego- bios-es decir “que favorece la vida”, fue usado por primera vez en el año de 1965 por Lilly y Stillwell, para describir a aquellas sustancias secretas por un microorganismo que estimulan el crecimiento de otras, en contraposición del término antibiótico (F.A.O. O.M.S. 2001).

Actualmente la definición que es utilizada es emitida por la FAO y la OMS, Probióticos **“son organismos vivos que al ser administrados en cantidades adecuadas proporcionan o generan efectos benéficos a la salud del organismo del huésped”**.

Esta definición hace hincapié en la presencia de microorganismos viables como: (células liofilizadas o en productos frescos o fermentados) en número suficiente para provocar efectos benéficos sobre la salud, a través de un restablecimiento de la microbiota endógena por colonización del intestino

Los probióticos se instalan en la mucosa intestinal, y ahí producen las sustancias inhibitorias que combaten la acción de bacterias toxigénicas; por lo tanto esta población microbiana representa un potencial metabólico importante; que no solo mantiene procesos de digestión, sino que también actúa sobre procesos de desintoxicación llevados a cabo en el intestino, además de la estimulación del sistema inmunológico, (Rodríguez, 2006). Las actividades metabólicas de las bacterias intestinales incluyen la síntesis de vitaminas B y K, la producción de ácidos grasos de cadena corta, los cuales sirven como fuentes de energía para los tejidos del huésped, así como la conversión de

carcinógenos presentes en la dieta a compuestos inactivos (Guías Mundiales de la WGO).

### **2.2.1 Propiedades generales de los probióticos**

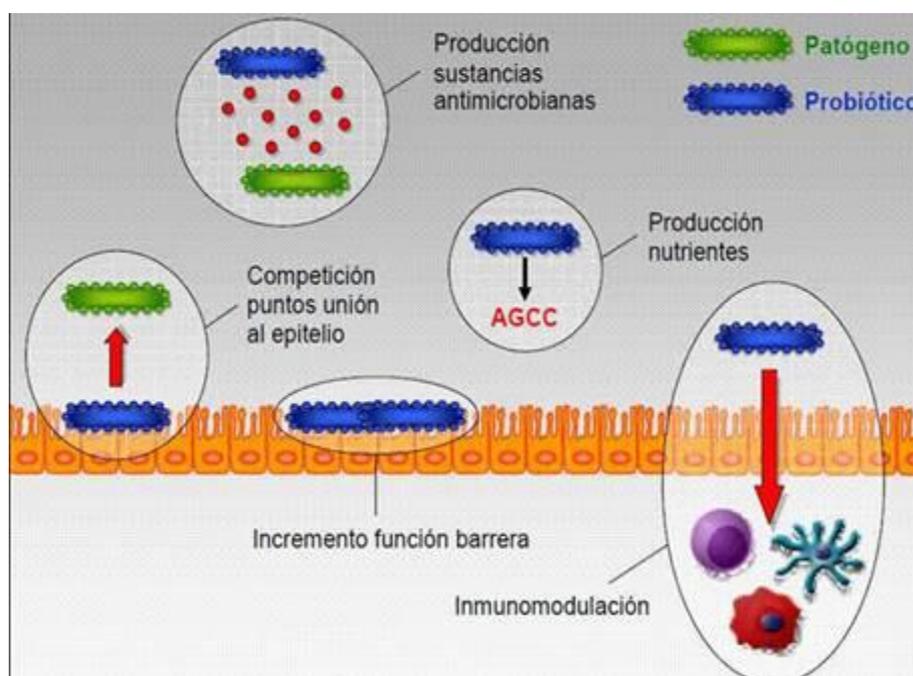
Para que un microorganismo pueda ser considerado probiótico, este debe tener cumplir con ciertos criterios, contener microorganismos no patógenos; que pueda habitar normal en el intestino; debe ser seguro y resistente a los procedimientos culinarios, debe ser resistente al pH estomacal y a la alcalinidad duodenal, así como a la bilis; también deben tener baja permeabilidad intestinal; ser reproducibles en poco tiempo, capaces de colonizar el intestino o permanecer en él por un tiempo; propiedad de adherirse a la mucosa intestinal para que no sean eliminados por el tránsito intestinal y producir compuestos antimicrobianos. (F.A.O., O.M.S., 2002).

### **2.2.2 Modo de acción y Bioseguridad de los probióticos.**

Aun no se ha descrito el mecanismo exacto del cual los probióticos ejercen su acción, por lo que es importante para ello entender sobre la fisiología y microbiología del tracto gastrointestinal y del proceso digestivo (Parvez y col., 2006). El efecto antagónico de las BAL contra bacterias patógenas e incluso deterioradoras de alimentos se conoce desde hace muchos años (Fernández - Escartín, 2009). Por la producción de sustancias con efectos antimicrobianos (Batrefoot and Kwaanhammer, 1983), reducen el pH del lumen intestinal; bacterias susceptibles a estos mecanismos son *E.coli*, *Streptococcus* y *Salmonella* entre otras (Amores, 2004).

Por esto clásicamente el efecto positivo de los probióticos es atribuido a su capacidad de transformar la composición de la microflora intestinal, de potencialmente dañina a beneficiosa para el huésped. Sin embargo, centrarse solo en ese aspecto y no abordar a fondo la trama sería desconocer otras muchas bondades que pueden brindar (Ausina Ruiz V., Moreno Guillen S, 2005). El estudio más exhaustivo de estos microorganismos permite establecer que tienen otras acciones a través de los cuales ejercen efectos beneficiosos **(Figura No.1),**

- Competición con bacterias nocivas por desplazamiento de su sitio de unión al epitelio.
- inhibición de su crecimiento y/o muerte mediante la producción de compuestos antibacterianos o reducción del pH.
- Mejora de la función de barrera intestinal.
- Producción de nutrientes importantes para la función intestinal.
- Inmunomodulación.



**Fig. 1 Mecanismo de acción desplegado por bacterias probióticas**  
(Stanier R y col, 2001).

Por otra parte se han realizado pruebas con animales estudios in vitro han demostrado que las cepas probióticas pueden ejercer una acción protectora en el intestino, al adherirse y colonizar al epitelio del intestino, compiten por los receptores, lo que permite la colonización de los patógenos (Ausina Ruiz V., Moreno Guillen S, 2005). Se han propuesto otro tipo de mecanismos como son: competencia por nutrientes, estimulación de la inmunidad y su presencia como biota normal del tracto gastrointestinal.

Los cultivos probióticos deben ser cuidadosamente evaluados respecto a su inocuidad, no deben producir sustancias tóxicas, ni metabolitos que puedan dañar al organismo huésped, es decir deben ser reconocidos como seguros (microorganismos GRAS por sus siglas en inglés (Ausina Ruiz V, 2005).

**(Cuadro 2)**

**Cuadro 2. Microorganismos probióticos y su estatus de seguridad.**

<b>Organismo</b>	<b>Infección potencial</b>
<b><i>Lactobacillus</i></b>	No patógeno
<b><i>Lactococcus</i></b>	No patógeno
<b><i>Streptococcus</i></b>	Oportunistas, solo <i>S.thermophilus</i> es usado en productos lácteos
<b><i>Enterococcus</i></b>	Oportunistas, solo algunas cepas tienen resistencia a antibióticos.
<b><i>Bacillus</i></b>	Solo <i>B. subtilis</i> , es reportado en uso probiótico
<b><i>Bifidobacterium</i></b>	Principalmente no patógenos, algunas cepas son aislados a partir de infección humana
<b><i>Propionibacterium</i></b>	Candidato potencial para Probióticos
<b><i>Saccharomyces</i></b>	No patógeno, algunas cepas son aisladas de infecciones humanas.

Chukeatirote, 2003

**2.2.3 Capacidad antimicrobiana de cepas probióticas**

En los últimos años en diversas investigaciones se ha demostrado el efecto antagónico que poseen varias especies provistas sobre microorganismos deterioradores de alimentos, así como de patógenos intestinales (Calderón y col., 2007). La producción de compuestos antimicrobianos es una característica de la mayoría de las bacterias. Una gran variedad de sistemas de defensas microbianas son producidas, incluyendo antibióticos de amplio espectro, subproductos metabólicos como: ácidos orgánicos, agentes líticos tales como; la lisosoma y varios tipos de exotoxinas.

Se ha reportado que los probióticos incluyendo géneros de *Lactobacillus spp*, *Bifidobacterium spp*, y *Enterococcus* entre otros, y pueden inhibir el

crecimiento de un amplio número de bacterias patógenas causantes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (**ETAs**), por ejemplo: *Bacillus cereus*, *Echerichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus*, y *Listeria monocytogenes* (por diferentes mecanismos como la producción de sustancias inhibitorias como el peróxido de hidrógeno, ácido láctico y bacteriocinas, (Alquicira Páez L, 2006).

#### **2.2.4 Actividad $\beta$ -Galactosídasa**

Los probióticos son excelentes asimiladores de lactosa debido a la producción de enzimas como la de  $\beta$ -Galactosídasa o fosfo-  $\beta$ -Galactosídasa. Este hecho resulta significativo en los sujetos que presentan intolerancia hacia la lactosa, debido a que la Beta-galactosídasa producida por los probióticos para estimular a producción de la lactasa, en consecuencia, se obtiene una mayor tolerancia a la lactosa ya que la enzima determina la hidrólisis de glucona y de galactosa

#### **2.2.5 Estimulación del sistema inmune**

Se han realizado estudios en humanos para investigar los efectos de cultivos probióticos sobre el sistema inmune, revelando que bacterias probióticas son capaces de aumentar tanto la inmunidad innata como la adquirida, por el aumento de la actividad de células y fagocitosis, cambiando perfiles de citocinas, e incrementando los niveles de inmunoglobulinas (Wold, 2001). Se han desarrollado dos cepas de probióticos con un enfoque particular sobre su efecto sobre la respuesta inmune: Bifidu (*Bifidobacterium lactis* HN019) y Rhamnosus (*Lactobacillus rhamnosus* HN001), (**Figura 2**) ambas cepas han demostrado en varios estudios el incremento natural de la función inmune en personas saludables (Brok T.D y col., 1978).

Además de lo anterior un punto importante de los probióticos es que entre el sistema inmune intestinal del humano y los microorganismos, exista una interacción y que haya una participación en el metabolismo local

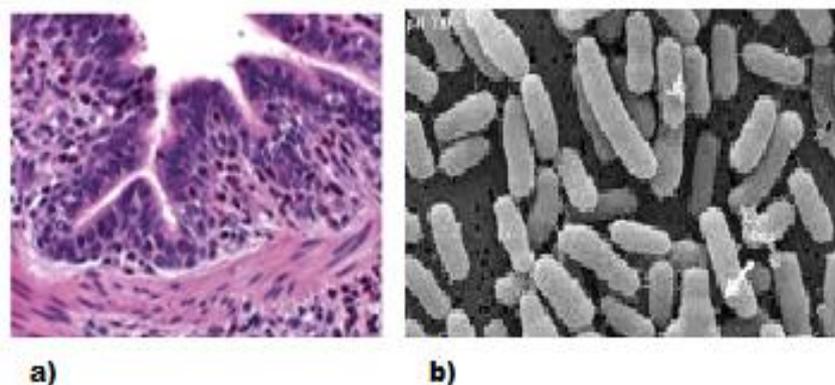


Fig. 2 Forma de dos géneros de bacterias probióticas.

a) *Lactobacillus rhamnosus* HN001    b) *Bifidobacterium lactis* HN019  
(Calderón, 2008)

### 2.2.5.1 Modulación del sistema inmunológico

Diversos estudios han demostrado que los probióticos poseen la habilidad de activar macrófagos y linfocitos mejorando los niveles de la inmunoglobulina A, (IgA), el anticuerpo más importante en las mucosas, es esencial en la regulación de la respuesta inmunológica y producción de gama interferón (Reid y col., 2003), esta activación del sistema inmune también contribuye hacia la resistencia del huésped a los patógenos. Yasiu en 1995, demostró que una cepa de *Bifidubacterium breve* (YIT4064) aislada de heces humanas e inductora de grandes cantidades de anticuerpos IgA; suministrada a ratones, aumentó significativamente la protección contra rotavirus.

### 2.2.5.2 *Lactobacillus GG* Probiótico.

*Lactobacillus GG*, es una cepa de *Lactobacillus rhamnosus (casei)*. Fue aislada en los años 80 en Boston (U.S.A), del intestino de una persona sana por los doctores Sherwood Gorbach y Barry Goldin, de aquí las iniciales de sus apellidos vienen de estas siglas GG. (Wold, 2001).

Se ha observado que la *Lactobacillus rhamnosus* cepa de GG (ha mostrado efectos benéficos en la inmunidad intestinal al incrementar el número de IgA y otras inmunoglobulinas de células secretoras en la mucosa intestinal.

*L. rhamnosus*, usada desde 1990 en productos lácteos fermentados en varios países o en forma liofilizada y congelada para efectos farmacéuticos.

El atributo más importante de esta bacteria es su capacidad para adherirse a las células del intestino, colonizando así el tracto gastrointestinal, lo que le permite desempeñar sus múltiples beneficios. Las bacterias utilizadas para la producción del yogurt, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*, han perdido esta capacidad, por lo que sus propiedades son transitorias.

#### **2.2.5.2.1 Propiedades de *Lactobacillus*:**

##### **Como probiótico, tiene la propiedad de:**

- Permanecer vivo y activo en alimentos y cápsulas.
- Tolerar las condiciones del tracto digestivo.
- Adherirse a la membrana mucosa del intestino y a la mucina intestinal e incrementa la respuesta inmune. (Aranceta Bartina J., Serra Maiem L., Requejo Marcos A.M., Ortega Anta R.M y Marcos Sánchez, 2002).
- Mejorar el balance de la microflora del tracto intestinal.
- Influenciar sobre el metabolismo intestinal e impedir la formación de componentes peligrosos.
- Prevenir y tratar diferentes tipos de diarrea.
- Reparar la membrana mucosa dañada y la barrera inmune de la membrana mucosa.
- Acelerar la recuperación por alergia a la leche y reducir los síntomas atópicos.

##### **Sus beneficios son:**

- Inhibe enzimas bacterianas precursoras del cáncer al colon y bloquea la introducción de bacterias patógenas, debido a la producción de una sustancia antimicrobiana llama piroglutamato.
- Disminuye la producción de endotoxina, que causa daño hepático.
- Regula la permeabilidad de la pared intestinal, normalizando las funciones digestivas.
- Mejora la digestión de la lactosa, cuya intolerancia ocasiona cólicos y flatulencia luego de su ingesta.
- Reduce los problemas intestinales debido a antibióticos que destruyen las vellosidades, y renueva la flora intestinal.

- Disminuye la gravedad y duración de la diarrea infantil aguda, la diarrea del viajero y la colitis recurrente por *Clostridium difficile*. (Ausina Ruiz V., Moreno Guillen S, 2005).
- Aumenta la secreción de inmunoglobulinas por la mucosa intestinal.
- Sirve como prevención en las infecciones urogenitales, especialmente debidas a *Candida albicans*.
- Es utilizado como coadyuvante en la administración oral de vacunas.

### **2.2.5.3 Reducción de cáncer de colón.**

En el caso de la actividad anticancerígena, ha evidenciado un efecto de las *Bifidobacterias*, sobre la modulación de la actividad enzimática de las poblaciones bacterianas del colón; las cuales a su vez podrían estar asociadas con enfermedades de aparición de tumores (Sanders, 1993). Por ejemplo; la incidencia de cáncer de colón fue más baja cuando la población de *Bifidobacterias*, fue más alta y la población de *Clostridium perfringens* fue más baja (Sanders, 1993). Así mismo se ha demostrado que la administración de *Bifidobacterias* o *Lactobacillus* a animales disminuyeron los tumores a los folículos aberrantes del colón, los cuales son lesiones precancerosas (Sanders, 1993; Torres 2002). Por otra parte, su uso se ha demostrado, principalmente a su atribución antimicrobiana contra microorganismos productores de carcinógenos, propiedades antimutagénicas y alteración de los procesos de diferenciación celular en tumores (García Garibay.M, Quintero Ramírez R., López Munguía A , 2004).

### **2.2.5.4 Disminución de la intolerancia a la lactosa.**

Una área donde hay buena evidencia de los probióticos, está relacionada con la habilidad de leches fermentadas para aliviar la condición conocida como intolerancia a la lactosa; la cual se presenta en personas cuyo intestino delgado no produce suficiente enzima lactasa ( Alais C., Lacasa Godina A, 2003).

Los pacientes con diarreas sufren de diarrea, dolores abdominales y presentan flatulencia excesiva después de ingerir leche. Sin embargo, cuando estos pacientes toman leches fermentadas, como yogurt, los efectos adversos por la intolerancia a la lactosa son menos severos o ausentes; esto es por  $\beta$ -

Galactosídasa (lactosa) en organismos vivos iniciadores como los probióticos. Así mismo se han realizado estudios en pacientes intolerantes a la lactosa para evaluar los efectos del consumo de leche conteniendo diferentes cepas de *Bifidobacterium longum* sobre la digestión de la lactosa (Brock. T.D, 1978). Por lo que se ha demostrado que leches conteniendo *B. longum* puede reducir los síntomas de mal absorción de la lactosa, mejorando su velocidad de consumo

### **2.2.6 Viabilidad de organismos Probióticos**

La viabilidad y estabilidad, son características que se desean mantener en los probióticos durante los procesos de manufactura y vida de anaquel de los alimentos, para asegurar que se encuentran en dosis suficientes y de esta manera asegurar que al ser consumidos, se mantengan vivos a través del tracto gastrointestinal y puedan colonizar el intestino delgado y por consecuencia puedan mantener su función biológica sobre el huésped (Stanier R. Y., Painter P.R, 1992). La federación internacional de lácteos ha recomendado que las bacterias deben ser activas, y estar presentes en el producto alimenticio en un número de por lo menos  $10^7$  UFC/g. (Romero del Castillo S.R., Mestres Lagarriga J, 2004).

### **2.2.7 Efectos benéficos generales en el hospedero**

Los probióticos tradicionalmente han sido utilizados en el tratamiento y prevención de varias enfermedades, en particular especies de *Lactobacilos* y *Bifidobacterias* se encuentran las más utilizados y estudiados por potenciar la inmunidad, incrementan la biodisponibilidad de ciertos nutrientes, mejoran el tránsito y la motilidad intestinal, estimulan la proliferación celular y elaboran ciertos productos fermentados beneficiosos. Disminuyen la intolerancia a la lactosa.

*L. acidophilus* y *B. bifidum* estimulan de forma inespecífica la actividad fagocítica de granulocitos y la producción de citoquinas. Se postula un efecto reductor de la mutagenicidad al disminuir la cantidad de ciertas enzimas fecales, así como una acción beneficiosa frente a enfermedades alérgicas o de etiología autoinmune e incluso frente al cáncer (Romero Cabello R, 2007).

Cabe destacar que no todas las cepas de bacterias ejercen efectos probióticos y existe gran variabilidad en cuanto a sus acciones, tanto entre las distintas especies como dentro de la misma.

Entre los efectos benéficos generales destacan los siguientes:

- Producción de sustancias antimicrobianas
- Reducen los niveles de colesterol
- Mejoran la resistencia a las infecciones
- Reducen la incidencia de enfermedades cardíacas
- Protegen contra algunos tipos de cáncer, diabetes, osteoporosis
- Reducen la incidencia de reacciones alérgicas
- Estimulan el sistema inmune
- Reducen la inflamación intestinal
- Disminuyen la incidencia de diarrea después del tratamiento con antibióticos
- Mejoran la digestión de lactosa
- Exclusión competitiva de la fijación de patógenos
- Competencia por los nutrientes
- Modulación del sistema inmunitario
- Mejoría en las enfermedades infecciosas.
- Reducción de enfermedades crónicas intestinales como colitis
- Reducir la obesidad
- Establecimiento de la flora en bebés prematuros.
- Disminución de la frecuencia y duración de la diarrea asociada al uso de antibióticos, infección por rotavirus y quimioterapia.

#### **2.2.7.1 Importancia de aplicación de probióticos en pediatría**

Dada la importancia de las aplicaciones de probióticos, en diversas áreas, se ha generado una gama de alternativas de estudio, en torno a sus beneficios es; por ellos que se están desarrollando investigaciones para comprobar científicamente los beneficios y bondades que implica la ingesta de estos microorganismos; un claro ejemplo es que se han utilizado en población pediátrica por sus efectos terapéuticos y por sus efectos preventivos. La aplicación de probióticos a niños con diarreas agudas disminuye el número de evacuaciones al día y reduce el tiempo de excreción viral y el tiempo de duración de la diarrea (Romero Cabello R, 2007).

Así mismo, se han utilizado como agentes para el tratamiento de trastornos intestinales como la colitis y la intolerancia a la lactosa. Una aplicación muy importante en pediatría, debido a los efectos inmunomoduladores de los probióticos, es su utilidad en el manejo de alergia a proteínas de la leche, tanto para niños con alergia severa como para la prevención de la alergia. Por su capacidad de reforzar la barrera mucosa intestinal, de modular la respuesta inmune, seguridad y a bajo costo.

### **2.2.8 Propiedades y funciones de los probióticos para considerarse como BAL**

Es necesario resaltar que para que una BAL se le pueda considerar probiótico debe cumplir con las siguientes propiedades y funciones.

- Mantenerse viables y estables durante toda la vida de anaquel.
- Resistir el paso a través del tracto gastrointestinal y resistencia a las sales biliares.
- Adherirse a las células epiteliales.
- Colonizar el lumen
- Capaces de integrarse a la microflora intestinal. ejerciendo efectos benéficos para la salud (Marzal M, Manrique S y Fernández, 2003).
- Seguridad biológica: Cepa no patógena, no carcinogénica, preferente de origen humano.
- Adherencia al tejido intestinal del hospedero.
- Capacidad de producir componentes antimicrobianos
- Capaces de un crecimiento rápido en las condiciones del colon.
- Eliminación de patógenos o reducción de la adherencia.
- Producción de ácidos, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas antagónicas del crecimiento de patógenos.
- Capacidad de inmunoestimulación (sin efectos proinflamatorios).
- Mejoramiento de la microflora intestinal, (Hernández A.G, 2004).

### **2.2.9 Administración y consumo de probióticos**

Las cepas vivas especialmente del grupo *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum* fueron por primeras vez suplementadas a los

productos lácteos en Alemania, debido a su adaptación al intestino y a los beneficios sensoriales para producir yogurts ligeros, mientras que en los Estados Unidos, la leche *acidophilus* fue conocida (Hernández A.G y Ruíz M.D, 2010).

Los probióticos pueden ser suministrados en diferentes formas, incluyendo a los alimentos fermentados, y productos farmacéuticos en forma microencapsulada. Se han realizado intensas investigaciones para desarrollar productos que contengan microorganismos probióticos, como especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, estas aplicaciones se han enfocado principalmente a productos lácteos, siendo el yogurt el principal representante, sin embargo en alimentos no lácteos como: carne, vegetales fermentados y jugos de frutas (**Cuadro 3**).

El efecto benéfico se lleva a cabo mediante dos mecanismos. El primero es a través del antagonismo que impide la multiplicación de otros microorganismos presentes en el colón, como microbiota normal del alimento o algún patógeno que se transmita por este producto alimenticio. Este antagonismo pudiera deberse a la competencia por los nutrientes, los sitios de adherencia, la producción de metabolitos que afectan su desarrollo, mediante la inmunomodulación que protege al huésped de las infecciones provocando un aumento de inmunoglobulinas.

**Cuadro 3. Ejemplos de especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* con efecto probiótico**

Bacteria	Efecto probiótico
<b><i>Lactobacillus Bulgaricus</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Produce ácido láctico</li> <li>•Estimula crecimiento de Bifidobacterias con efecto barrera en la translocación <i>E.Coli</i>.</li> <li>•Capacidad de producir antibióticos</li> <li>•Se recomienda en la intolerancia la lactosa</li> <li>•Se utilizan en la preparación yogur</li> </ul>
<b><i>Lactobacillus Casei</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Eficaz equilibrio de la microflora intestinal</li> <li>•Previene trastornos intestinales</li> <li>•Potente acción antidiarreica</li> </ul>
<b><i>Lactobacillus Plantarum</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Produce proteínas con actividad bactericida, bacteriocitas</li> <li>•Activas frente a bacterias gram positivas</li> <li>•Eficaz equilibrio de la microflora intestinal</li> </ul>
<b><i>Lactobacillus Lactis</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Produce antibióticos polipeptídicos, nisinas</li> <li>•Se emplea en la industria para controlar la fermentación</li> </ul>
<b><i>Lactobacillus Acidophilus</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Acción antagonistas sobre el crecimiento de distintos tipos de bacterias: <i>STF Aureus</i>, <i>Salmonella tiphimurium</i>, <i>E. Coli</i></li> <li>•Mecanismo de acción : peróxido de hidrógeno producido por lactobacilos</li> <li>•Produce 2 bacteriocinas: Lactacina B y Lactacina F</li> <li>•Sustancias con actividad antibiótica : acidofilina ( <i>Salmonella</i> , <i>shigella</i>, <i>Pseudomonas</i> ) , acidolina y lactocidina (gram negativos)</li> </ul>
<b><i>Bifidobacterium Bifidum</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Bacterias anaerobias.</li> <li>•Flora predominante en lactantes alimentados con leche materna</li> <li>•Ejercen efectos preventivos contra la diarrea en la infancia por causa de rotavirus</li> </ul>
<b><i>Propionibacterium Schermani</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Se caracterizan por su capacidad de producir ácido propiónico</li> <li>•Puede producir vitamina B12 y acumular prolina</li> <li>•Se recomienda en la intolerancia la lactosa</li> <li>•Se utilizan en el sector quesero</li> </ul>
<b><i>Streptococcus Thermophilus</i></b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Se reproduce en el tracto gastrointestinal</li> <li>•Produce ácido láctico , responsable de la actividad lactasica</li> <li>•Similar al <i>Streptococcus Salivarius</i> ; capacidad real contra la colonización por <i>Helicobacter pilory</i></li> <li>•Se recomienda en intolerancia a la lactosa, infección por <i>Helicobacter pilory</i></li> </ul>

Fuente: (Brock T.D, 2005)

## 2.3 Prebióticos

Los prebióticos se definen en general como 'ingredientes no digeribles de los alimentos que afectan beneficiosamente al huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o la actividad de una de las especies de bacterias que están ya establecidas en el colón, o de un número limitado de ellas, y por consiguiente mejoran de hecho la salud del huésped, además de que ejercen acciones favorables sobre el organismo al fomentar el crecimiento de microorganismos para la salud. Recientemente se definen como el citoesqueleto de los vegetales o ingredientes no digeribles de la dieta, que producen efectos benéficos estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de uno o más bacterias en el colón, con un elevado efecto sobre la salud del hospedero..

### 2.3.1 Aplicaciones de prebióticos y efectos en el hospedero

Los más utilizados son: fruto - oligosacáridos, galacto - oligosacáridos y las oligo-fructosas. (Brock T.D, 1978). Esta selectividad fue demostrada para *Bifidobacterias*, las cuales pueden ser promovidas por la ingestión de sustancias tales como fructo-oligosacaridos e inulina.

Así mismo se encuentran presentes en una amplia variedad de alimentos vegetales, pero debido a sus características son utilizados por la industria alimenticia como espesantes, gelificantes, humectantes o sustitutos de algún macroelemento como la grasa; sin embargo la evidencia científica muestra efectos positivos sobre funciones como: regulación de la microflora y resistencia a infecciones agudas, mejoramiento del tránsito intestinal, mayor absorción de minerales (calcio y magnesio), contribuyen al metabolismo de glúcidos y lípidos, entre otros. (Guerrero y col., 2003).

Actualmente los oligosacáridos más estudiados y reconocidos con actividad prebiótica son los fructanos. Este es un término genérico empleado para describir a todos los oligo o polisacáridos de origen vegetal, y se refiere a cualquier carbohidrato el cual una o más uniones fructosil-fructosa predominan dentro de las unidades glucosídicas.

Por lo anterior, los prebióticos son generalmente hidratos de carbono de cadena corta, que pueden ser fermentados a lo largo del tracto gastrointestinal y estimulan el crecimiento de *Bifidobacterias* potencialmente benéficas, entre ellos están la **fibra dietética**; la cual tiene un papel importante en el mantenimiento y desarrollo de la flora bacteriana intestinal así como prevenir e incluso evitar la translocación bacteriana, ya que los productos finales de la fibra son tróficos para las células epiteliales intestinales; de este modo se mantiene el equilibrio de la flora intestinal, mediante la fermentación y la producción bacteriana de ácidos grasos de cadena corta AGCC. (Aranceta Bartrina J., Serra Maiem L., Requejo Marcos A.M., Mateos Guardia J.A., Marcos Sánchez A., Ortega Anta R.M, 2002).

Por ello la translocación bacteriana se define como el paso de gérmenes de origen gastrointestinal hacia tejidos estériles como el hígado, brazo y pulmón, dicho movimiento de bacterias fuera de su lugar puede comprometer seriamente el sistema inmune del individuo. Se ha observado una mejora de la flora intestinal al aumentar el número de bacterias anaerobias como *Bifidobacteria* y *Lactobacillus* y disminuir los *Clostritium*, aumentando la microflora, así su producción de AGCC, especialmente acetato, butirato y propionato. Los AGCC se absorben rápidamente, estimulan la absorción de agua y sal, y proporcionan una fuente de energía para el colon.

### **2.3.2 Importancia general de la fibra dietética como prebiótico**

La fibra dietética es la fracción no digerible de los alimentos y es uno de los constituyentes de nuestra dieta más importantes, debido a sus efectos positivos para la salud de los consumidores. Antiguamente sólo se consideraba como fibra la celulosa de los vegetales. Hoy en día, se entiende por fibra toda sustancia que no es atacada por los enzimas del estómago y del intestino delgado, por lo que llega al colon sin degradarse. Consta de dos fracciones (soluble e insoluble en agua) y sus propiedades nutricionales vienen determinadas por los porcentajes en dichas fracciones. .

- La fibra tiene una influencia significativa en el grado de absorción de los nutrientes a distintos niveles:

- En el estómago, aumenta la viscosidad y retrasa el vaciado gástrico.
- A nivel del intestino delgado, su capacidad para absorber algunos nutrientes hace que disminuya la velocidad de paso de los nutrientes a la sangre.
- En mercado actual existen numerosos productos adicionados con fibra, entre ellos lácteos y amasados (panes y galletitas) entre otros, los cuales aportan cantidades significativas de fibra en alimentos de consumo habitual.

Por lo tanto la fibra, al llegar al colon, es atacada por la flora bacteriana y sufre, en mayor o menor grado, un proceso de fermentación con formación de ácidos grasos de cadena corta, que favorecen el crecimiento de las bacterias probióticas. (**Cuadro 4**). Por lo tanto, uno de los efectos de la fibra es “atrapar” o “secuestrar”. Los nutrientes (principalmente grasas) para que no se absorban y sean eliminados a través de las heces.

**Cuadro 4. Propiedades y efectos asociados a la fibra dietética.**

Efecto	Consecuencia benéfica
Aumenta la sensación de la saciedad	Comemos menor cantidad de alimentos
Disminuye el tiempo del tránsito intestinal	Regula el tránsito intestinal
Aumenta la excreción	Controla el estreñimiento
Aumenta la excreción de grasas	Menos calorías absorbidas
Retrasa la absorción de glucosa	Disminuye el índice glucémico
Mantiene y desarrolla la flora bacteriana intestinal	Factor preventivo de ciertos tipos de tumores
Acción hipocolesterolemizante	Factor preventivo de enfermedades cardiovasculares

(Andersson, 2001)

### **2.3.3 Clasificación de diferentes tipos de fibra prebiótica**

#### **2.3.3.1 Inulina**

Es un fructano polídisperso que consiste en una mezcla de oligómeros y polímeros mayores formados por uniones  $\beta$ -(1-2) frucosil-fructosa. Se encuentra en gran variedad de plantas, principalmente en la raíz de la achicoria, puerro, esparrago, trigo, cebada entre otros. También se localiza en partes aéreas de las gramíneas, (cereales, pastos) de las cuales es más difícil extraerla, ya que se encuentra asociada a carbohidratos complejos e insolubles como: celulosa, hemicelulosa y polifenoles. (Minor, 2003). La inulina puede ser sintetizada a partir de la raíz de la achicoria y desde la sacarosa a través de la acción de la  $\beta$  - fructo-furanosidasa (origen: *Aspergillus Níger*).

La inulina posee un sabor neutral suave, moderadamente soluble en agua y otorga cuerpo y palatividad. Tiene diversas aplicaciones en la industria de alimentos, puede ser utilizada como sustituta del azúcar, reemplazante de las grasas, agente texturizante y/o estabilizador de espuma y emulsiones. Por este motivo son incorporados a los productos lácteos, fermentados, jaleas, postres airados, mousses, helados y productos de panadería. La dosis máxima permitida para adicionar alimento formulado con inulina es para dosis simple hasta 10g/día y en dosis múltiples hasta 20g/día. En dosis mayores a la permitida puede provocar intolerancias luego de su consumo, como efectos osmóticos (diarrea), ruidos intestinales y flatulencia como consecuencia del proceso de fermentación.

#### **2.3.3.2 Oligofructosa**

Se obtiene mediante la hidrólisis enzimática parcial de la inulina, está compuesta por cadenas lineares de glucosil-fructosil. Se encuentra presente en alimentos como.: cereales, cebolla, ajo y choclo. Esta sustancia es mucho más soluble que la inulina y moderadamente dulce, como el azúcar, en combinación con edulcorantes intensos genera un paladar más acabado y un gusto frutal más duradero con menor sabor residual.

En la industria se la puede utilizar en yogures con fruta, leches fermentadas, quesos frescos, helados y bebidas lácteas con un posicionamiento de alimentos reducidos en calorías. También mejora la textura y la palatividad del producto final, muestra propiedades humectantes, reduce la actividad acuosa y cambia los puntos de ebullición y congelamiento.

#### **2.3.3.3 Polídextrosa**

Es un polímero sintético de glucosa con terminales de sorbitol y ácido cítrico. Es un buen humectante, efectivo para controlar la humedad de los productos, puede ser utilizado en grandes cantidades sin influir en el sabor del producto final, dado que posee un sabor neutro, así mismo ser utilizada como fuente de fibra o como prebiótico con efectos benéficos para la flora intestinal. Conocida por ser un excelente agente de cuerpo, siendo un sustituto del azúcar y grasas. Su capacidad de retener agua propicia una textura similar a la de la harina, cuando es comparada con otras fibras. Posee un sabor neutro y una agradable palatividad. En aplicaciones como galletas controla la formación de gluten, por absorber agua preferentemente. Esto reduce la necesidad del agregado de grasas por lo cual es ideal para la elaboración de amasados.

#### **2.3.3.4 Galacto-oligosácaridos**

Pertenecen a la serie rafinosa y están formados por moléculas de galactosa. Los más frecuentes en el mundo vegetal son la rafinosa, estaquiosa y verbascosa de 3 a 5 galactosas respectivamente, se encuentran presentes principalmente en las legumbres.

#### **2.3.3.5 Sustancias pécticas**

Engloban un grupo de sustancias asociadas a la hemicelulosa. Son macromoléculas coloidales capaces de absorber gran cantidad de agua y se encuentran formadas esencialmente por ácido D galacturónico unidos por enlaces a (1- 4). La industria alimentaria utiliza estas sustancias como espesantes, ya que incorporan en su estructura agua otorgando a la preparación una consistencia homogénea que posibilita la sustitución de grasas en lácteos, crema de leche, yogures entre otros.

### 2.3.4 Aspectos Saludables de los Prebióticos en el hospedero

El principal sustrato para las bacterias anaeróbicas del colon, son los carbohidratos de la dieta que escapan a la digestión en el tracto gastrointestinal alto. Se ha comprobado que la presencia de inulina y otros fructooligosacacáridos se producen en el colon; como resultado final de la fermentación bacteriana y en cantidades importantes de (AGCC), hidrógeno, metano, dióxido de carbono, lactato e incremento de la biomasa bacteriana. El aumento de la concentración de lactato y acetato e inhibe el crecimiento de *E. coli*, *Clostridium* y otras bacterias patógenas pertenecientes a los géneros *Listeria*, *Shigella*, o *Salmonella*; pero a su vez incrementa el recuento de *Lactobacillus* y *Bifidobacterias*.

Además de que grandes cantidades de AGCC (acético, propiónico y butírico) incrementa la absorción del calcio y magnesio a través del aumento de la solubilización de sales de calcio y por medio de la activación del mecanismo de transporte para la absorción de este mineral; una parte de los AGCC (Schaafsma, 1996), son eliminados a través de las deposiciones y la otra es utilizada por las bacterias para su propio metabolismo.

El butirato es la principal fuente de energía; utilizada por el epitelio colónico, y se ha evidenciado que ejerce efectos funcionales, como la estimulación del crecimiento de la mucosa colónica y aumento de la irrigación sanguínea, reduce el crecimiento de células tumorales epiteliales de origen colónico, e induce a la diferenciación de sus células.

Así mismo, especies de *Lactobacilos* y *Bifidobacterias* están capacitadas para excretar naturalmente antibióticos, se ha comprobado que determinadas especies de *Bifidobacterias* están calificadas para ejercer un efecto antibacteriano en varios patógenos intestinales gram-negativos y gram-positivos por ejemplo *Campilobacter*, *Echerichia Coli*, y *Salmonella*, (Rodríguez Cavallín

### 2.3.5 Grasas

La grasa dietética tiene un efecto inmunomodulador importante. Su mecanismo de actuación consiste en modificar la composición de membranas celulares, en

función del tipo de ácido graso de la grasa dietética. Los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) n-3 son los que con mayor frecuencia se añaden a los Alimentos Funcionales por actuar como agentes antiinflamatorio, se aconseja el consumo de AGP n-3 en enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide y como prevención de enfermedades cardiovasculares, por sus efectos beneficiosos contra la hipercolesterolemia.

### **2.3.6 Aminoácidos y clasificación.**

Los aminoácidos que ejercen una mayor influencia sobre la inmunidad son arginina, glutamina y cisteína.

#### **2.3.6.1 Arginina:**

Sus complementos en la dieta mejoran la función inmune celular, ya que estimulan la actividad de los linfocitos T y promueven la proliferación linfocítica en respuesta a mitógenos.

#### **2.3.6.2 Glutamina**

Es considerada como el aminoácido más implicado en la respuesta inmune por ser el combustible principal junto a la glucosa de las células del sistema inmune y ser el nutriente fundamental de las células inmunocompetentes en cultivo para que se produzca una adecuada proliferación de linfocitos, producción de citoquinas y la fagocitosis. Además de que se ha visto que la administración de glutamina por vía enteral estimula el crecimiento de la mucosa intestinal, por lo que mantiene la barrera de mucosa intacta frente a posibles infecciones.

#### **2.3.6.3 Cisteína**

Fortalece la capa protectora del estómago e intestino, lo que ayuda a prevenir el daño provocado por numerosos fármacos, y es importante en el funcionamiento del sistema inmune y en la salud de pelo, uñas y piel.

### **2.3.7 Micronutrientes (Vitaminas)**

Estudios han indicado que micronutrientes como el selenio o las vitaminas A, C y E pueden influir en varios componentes del sistema inmune. Muchos de estos micronutrientes están incluidos en los (AF), actualmente en el mercado (cereales del desayuno, zumos, productos lácteos), a causa de su importante

papel en la prevención de enfermedades y la promoción de la salud, en parte por el carácter antioxidante de muchos de ellos.

#### **2.3.7.1 Vitamina C:**

El ácido ascórbico parece actuar sobre el sistema inmune incrementando la capacidad proliferativa de los linfocitos T, atenuando así los efectos supresores de los glucocorticoides sobre el sistema inmune. Dado el poder antioxidante de la vitamina C, se ha sugerido que la suplementación con este micronutriente produce una mejora en el sistema inmune y como consecuencia, una menor incidencia de este tipo de infecciones.}

#### **2.3.7.2 Vitamina E:**

Se ha observado el hecho de una ingesta adecuada de vitamina E es esencial para el correcto funcionamiento del sistema inmune, especialmente en las personas de edad avanzada. La vitamina E tiene un efecto protector frente a las infecciones, ya que estimula la producción de inmunoglobulinas y aumenta la respuesta al test de hipersensibilidad retardada, mejorando la función inmune humoral y celular. Es importante por su acción antioxidante, previniendo la propagación de radicales libres y la oxidación de los lípidos de las membranas celulares. Además, la vitamina E reduce la formación de PGE2 y es capaz de revertir el efecto inmunosupresor del estrés, probablemente por reducir los niveles de corticosteroides.

#### **2.3.7.3 Vitamina A:**

La deficiencia de la vitamina A puede afectar la función de diferentes células del sistema inmune. Así, se han observado defectos en la actividad fagocítica (alteración en la quimiotaxis, adhesión y en la habilidad para generar metabolitos reactivos de oxígeno de los neutrófilos) y en el deterioro de la función de las células T y B. Además, la deficiencia de la vitamina A reduce la actividad de las células NK, disminuye la producción de interferón, reduce la efectividad de la actividad de los macrófagos que fijan grasa y disminuye la respuesta de linfocitos estimulados por mitógenos. Por ello, se han llevado a cabo multitud de estudios y se han observado los efectos de la suplementación con este nutriente en aquellos individuos con déficits y se ha demostrado un

gran descenso en los índices de mortalidad, llegando a obtener cifras importantes hasta de un 50%.

### **2.3.8 Minerales (Oligoelementos).**

En una dieta equilibrada, desde un punto de vista alimenticio, ningún fortalecimiento es necesario, pero los consumidores no se satisfacen con el producto diario y buscan maneras alternativas de compensar. Están cada vez más interesados en las necesidades de minerales y en la funciones de esos minerales en el cuerpo humano.

#### **2.3.8.1 Selenio**

El selenio tiene importantes efectos adicionales sobre la salud, particularmente en relación con la respuesta inmune, la enfermedad viral y la prevención del cáncer.

#### **2.3.8.2 Calcio**

Es un mineral importante en huesos y dientes. Dado que el consumo de productos lácteos es demasiado baja en ciertos países o entre ciertos grupos por ejemplo en mujeres mayores, niños, jóvenes y mujeres adolescentes, embarazadas y lactantes, la aportación de calcio en ocasiones es demasiado baja, de forma que puede causar osteoporosis en personas mayores, por lo tanto la fortificación de calcio en productos, regular y fácilmente consumidos, puede ser útil para el consumidor.

#### **2.3.8.3 Hierro**

Aportado en cantidades adecuadas evita la anemia ferropénica. Es especialmente importante en adolescentes, mujeres embarazadas y lactantes, y en los deportistas. En estos grupos de individuos el hierro puede ser insuficiente en su dieta normal y por ello ser necesaria la aportación por medio de alimentos fortificados, por ejemplo (productos cárneos y derivados, helados, alimentos azucarados, bebidas fermentadas, bebidas, aguas carbonatadas) entre otras.

#### **2.3.8.4 Magnesio:**

Desempeña un papel importante en todo el proceso de la osificación, en unión del calcio, otra función muy importante del magnesio es su influencia en los

nervios y músculos, al prevenir calambres musculares durante el ejercicio, insomnio, mala memoria y síntomas tensionales-emocionales se atribuyen a una baja concentración sérica de magnesio.

### 2.3.8.5 Zinc

Se utiliza actualmente para su efecto positivo sobre el sistema inmune. Aunque puede encontrarse en alimentos fortificados, como el jugo anaranjado, también se halla en alimentos para niños y en alimentos para deportistas.

### 2.3.9 Fitoquímicos

Los fitoesteroles o esteroides de las plantas son estructuralmente parecidos al colesterol. El interés por estos esteroides ha surgido debido a su efectividad para reducir la absorción del colesterol de la dieta y así proteger contra las enfermedades cardiovasculares. Existen varios Alimentos Funcionales con este objetivo en el mercado, desde productos lácteos a repostería.

Así mismo en el siguiente cuadro se muestran funciones generales de los prebióticos para optimizar las funciones de la flora intestinal. (Cuadro 5) Se enumera algunas áreas en las que el uso adecuado de prebióticos puede proporcionar beneficios para la salud del hospedero. **(Cuadro 5)**

**Cuadro 5. Función básica de la microbiota intestinal y su posible optimización mediante el uso de prebióticos**

<b>i. FUNCIONES METABOLICAS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Incremento de la absorción de calcio</li> <li>➤ Regulación del metabolismo hepático de lípidos</li> <li>➤ Formación de biomasa fecal</li> </ul>
<b>ii. FUNCIONES DEFENSIVAS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Prevención y tratamientos de infecciones gastrointestinales</li> <li>➤ Prevención de infecciones sistémicas por translocación bacteriana</li> </ul>
<b>iii. FUNCIONES TRÓFICAS</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Prevención y tratamiento de las enfermedades con base autoinmune: enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, etc.</li> <li>➤ Prevención del cáncer colón rectal</li> </ul>

(Videla y col, 2001).

## 2.4 Características generales de los prebióticos como ingrediente alimenticio.

- ✚ No debe ser hidrolizado o absorbido en la parte alta del tracto digestivo.
- ✚ Debe ser fermentado selectivamente por una o un número limitado de bacterias potencialmente benéficas del colon, por ejemplo *Bifidobacterias* y *lactobacilos*.
- ✚ Deben ser capaz de alterar la microflora colónica tornándola saludable, por ejemplo reduciendo el número de organismos putrefactivos e incrementando las especies sacarolíticas (FAO, 2011).

## 2.5 Efectos benéficos en el hospedero generales

- Contribuyen a restaurar la microbiota, es decir los microorganismos que viven habitualmente en el intestino.
- Compiten con microorganismos patógenos en el intestino, inhibiendo toxinas bacterianas y evitando infecciones.
- Producen sustancias antimicrobianas contra otros organismos no deseados.
- Prevenir y tratar las diarreas infecciosas, asociadas al uso de antibióticos.
- Mejoran y estimulan el sistema inmune.
- Pueden actuar en diversos órganos, por ejemplo en el sistema respiratorio, digestivo, urinario, entre otros.
- Prevenir algunas manifestaciones alérgicas (rinitis, eczema atópico).
- Tratar y prevenir los cólicos en el lactante.

## 2.6 Importancia general del Aloe Vera

El Aloe Vera ha sido importante por sus muchas las propiedades bioactivas reconocidas a esta planta subtropical usada en aplicación externa como cicatrizante, reparadora y antienvjecimiento pero que también tiene importantes acciones internas; inmunológicas, antioxidantes y de protección intestinal.

Es por ello que existen diversas investigaciones relacionadas con las plantas, las cuales se caracterizan por tener actividad prebiótica como el Aloe Vera, (Domínguez R., Arzate I., Chanona J., Welti J., Alvarado J., Calderón G., Garibay V., Gutiérrez G. 2012), de la cual se han extraído polisacáridos

principalmente el glucomanano y acemano, que se han utilizado en las industrias farmacéutica, cosmetológica y alimentaria.

### **2.6.1 Propiedad importante del Jugo del Aloe Vera como Prebiótico y/o Simbiótico en Alimentos.**

Por lo anterior y porque contiene elevados niveles de enzimas, esto lo hace un cultivo de gran valor, ya que las enzimas ayudan al cuerpo a absorber los alimentos básicos y a la vez los purifica.

Una propiedad interesante; es consumir el jugo de *Aloe vera* por las siguientes características que confiere: su valor nutritivo ya que contiene 19 aminoácidos esenciales, necesarios para la formación y estructuración de las proteínas, que son la base de las células y tejidos, y también minerales como el calcio, fósforo, cobre, hierro, magnesio, potasio y sodio, todos los elementos indispensables para el metabolismo y actividad celular.

El *Aloe vera* también contiene vitamina A (necesario para el buen funcionamiento de la visión, para el bienestar del cabello y la piel); vitamina B1, B5, B6 y B 12 (requerido por el sistema nervioso central y periférico) y vitamina C (responsable del fortalecimiento del sistema inmunológico y de la integridad de los capilares del sistema cardiovascular y circulatorio) (Choi, S and Chung. M, 2003).

Se considera desintoxicante, pues contiene ácido urónico, elemento que facilita la eliminación de toxinas a nivel celular, y a nivel general estimula la función hepática y renal, primordiales en la desintoxicación de nuestro organismo. Su capacidad bacteriostática, bactericida y antiviral, inclusive elimina bacterias patógenas como *Salmonella* y *Estafilococos*, que causan infecciones, inhibiendo su acción dañina (Miranda, M., Maureira, H., Rodriguez, K. y Vega, A, 2009).

Debido a sus propiedades nutricionales y composición química tiene un alto potencial como agente promotor del desarrollo de bacterias probióticas. Por este motivo el jugo de la planta de sábila (*Aloe vera*), como una bebida simbiótica, es decir que al unirse se potencia una actividad probiótica-prebiótica

y al llegar al intestino y al colón del ser humano estas bacterias realizarán sus funciones para beneficiar al huésped. Dicha bebida está sustentada en ingredientes naturales y utilizada como un prebiótico y medio para las bacterias lácticas que servirán como agentes probióticos ya que actualmente es lo que los consumidores buscan en los alimentos.

Es decir que los sustratos para la proliferación microbiana se albergan en el colon y son en mayoría, una variedad de compuestos no digeribles procedentes de la dieta, principalmente carbohidratos (oligosacáridos, polisacáridos o derivados hidrolíticos de los mismos), que llegan a esta localización, y que pueden ser fermentados de forma preferente por la microbiota beneficiosa del colon (microorganismos probióticos), y así a estos microorganismos proporcionar una ventaja selectiva en este ambiente.

Así mismo al tratarse de un producto regional de amplio consumo y cuya industrialización como alimento ha sido limitada sólo a la producción de jugo en una bebida; es de suma importancia buscar algunas otras alternativas para explotar sus características nutricionales y su uso terapéutico en el tratamiento y prevención de enfermedades, (Castro R. Proyecto CORFO, 2004).

La biotransformación del jugo de *Aloe vera* con microorganismos probióticos incrementará las propiedades de éste como alimento funcional, al mismo tiempo que extenderá su tiempo de vida de anaquel debido al efecto protector causado por el desarrollo y metabolismo de las bacterias probióticas, resultando en un producto nuevo con un valor agregado mayor al jugo sin biodegradar.

## 2.7 Características generales del Agave salmiana

En las áreas semidesérticas de México existe una gran diversidad de plantas que pertenecen a la familia Agavaceae, siendo el Agave el género más explotado e importante desde el punto de vista comercial, ya que ha logrado tener un amplio rango de aplicaciones en el desarrollo cultural y biotecnológico en donde se destacan propósitos **alimentarios**, religiosos, textiles, de construcción y ornamentales (Narváez y Sánchez, 2009); la palabra “Agave”

fue usada por Charles Linneo en 1753 para caracterizar a este género por su habilidad para desarrollarse bajo condiciones extremadamente secas, pero también pueden encontrarse en otros ecosistemas con elevada humedad (López y Mancilla, 2007; Ortiz y col., 2009). En México existen alrededor de 135 especies de Agave lo que corresponde al 75 % de este tipo de vegetación (Narváez y Sánchez, 2009) siendo las especies más importantes el A. tequilana, para la producción de tequila, A. salmiana, A. angustifolia, A. americana y algunas otras especies que son cultivadas comercialmente para la producción del mezcal (De León y col. 2006; Escamilla, 2012).

### **2.7.1 Agave salmiana importancia como prebiótico**

En México, desde la época prehispánica, diversos recursos naturales han sido empleados para diferentes fines dentro de los cuales, la formulación de alimentos y bebidas juega un papel sumamente importante debido al incremento de la población.

De las diversas fuentes naturales con gran potencial de aplicaciones industriales se encuentra el maguey pulquero también conocido como Agave; planta que pertenece a la familia Agavaceae y de la cual se derivan una serie de subproductos tales como el tequila, mezcal, jarabes fructosados, aguamiel, pulque, bagazos empleados como fibra dietética, (López y Mancilla, 2007).

Sin embargo, de todos estos subproductos, hasta ahora el aguamiel ha sido uno de los menos aprovechados tecnológicamente hablando, ya que el principal uso que se le ha dado es para la elaboración de pulque, una bebida alcohólica tradicional mexicana que resulta del fermento de este líquido que emana de la capación central del maguey adulto (Sánchez y Hope, 1953; Estrada y col., 2001; Cervantes, 2008; Valadez y col., 2012).

La explotación del aguamiel puede basarse en la amplia gama de compuestos nutracéuticos que contienen importantes ingredientes como: carbohidratos, especialmente oligosacáridos que funcionan como prebióticos y antioxidantes naturales, los cuales pueden ser utilizados en la industria alimenticia, farmacéutica y de la fermentación; por lo cual es necesario buscar alternativas viables para un aprovechamiento integral de las plantas endémicas mexicanas

como el Agave, así como de sus residuos naturales y/o subproductos y de esa manera contribuir a mejorar la economía del país (García y col., 2010).

Las plantas del género Agave, específicamente los magueyes, representan uno de los recursos naturales más importantes desde el punto de vista económico, cultural y social en el continente mexicano, debido a que de ellas se puede obtener una enorme variedad de subproductos y residuos que pueden ser empleados en la industria de la fermentación para la producción de compuestos de interés alimentario como materiales lignocelulósicos

### **2.7.2 Importancia del aguamiel en la industria alimentaria**

La importancia de la producción de aguamiel radica en las distintas aplicaciones industriales diferentes al uso tradicional de la elaboración de pulque, tales como, la fabricación de jarabes fructosados, azúcares que sirvan como edulcorantes naturales para pacientes diabéticos, miel de maguey entre otros (Zuria y Gates, 2006; Domínguez y col., 2008). Además se ha reportado el empleo del pulque para elaborar el famoso y tradicional “pan de pulque” producido en el estado de Coahuila, (De León, A., L. González, A. P. Barba, P. Escalante y M. G. López, 2006)

Así mismo Valadez en 2012, mencionaron que el aguamiel es rico en carbohidratos como sacarosa, fructosa, glucosa, por lo que puede ser usado para la obtención de polisacáridos, fructanos de agave o jarabes de alta fructosa. Estos últimos han ganado una particular atención como aditivos alimenticios debido a que proporcionan efectos benéficos a la salud, ya que estimulan la absorción de calcio en la postmenopausia de la mujer, incrementan la absorción de hierro en los niños, ayudan en la prevención del cáncer de colon y disminuyen el índice glucémico siempre y cuando se haga un consumo moderado de estos jarabes. (González Martínez B.E., Treviño, Jiménez Salas Z, 2003)

González en 2012 reportó que los Agaves contienen en su composición muchos fructanos de tipo inulina, los cuales son azúcares no tóxicos, de bajo valor calórico y que por lo tanto tienen potencial para utilizarse en el desarrollo de nuevos alimentos funcionales. También, los desechos del agave son una rica fuente de fibras para la fabricación de papel o para la producción de fertilizantes (Narváez y Sánchez, 2009), así como para la obtención de complementos alimenticios como vitaminas. Por lo tanto, existen innumerables vías de explotación económica del aguamiel con el propósito de obtener un aprovechamiento tecnológico-alimentario tanto de las plantas de Agave como de sus subproductos.

## **2.8 Simbióticos**

La simbiosis se define como la mezcla de probióticos y prebióticos. Mejoran la sobrevivencia y la implantación de suplementos dietéticos de microbios vivos en el tracto gastrointestinal, es decir es la adición microbiana viva propia del probiótico con una sustancia específica para el crecimiento. (González Narváez A.M., Marcos Sánchez A, 2009).

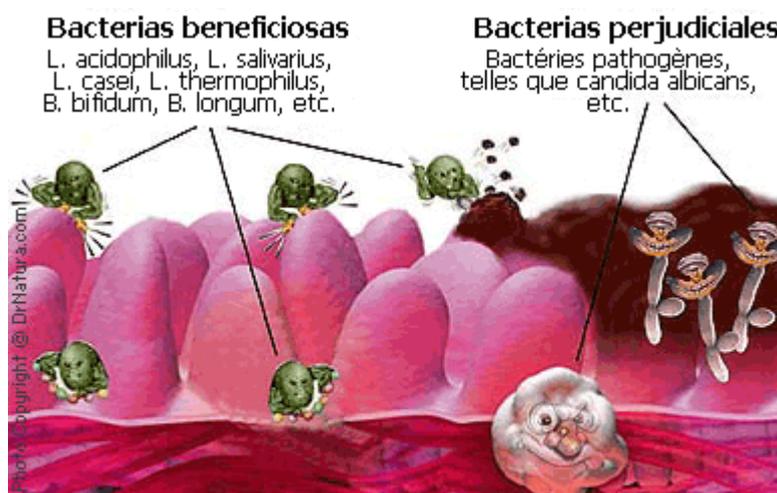
### **2.8.1 Características generales**

La relación simbiótica se basa en cómo los oligosacáridos (fibra soluble) de los vegetales sirven para potenciar la acción de las bacterias beneficiosas, que los utilizan para alimentarse y desarrollarse.

Actualmente se recomiendan la incorporación de alimentos simbióticos a la dieta a fin de fortalecer el sistema inmunológico e inhibir cánceres de colon y vejiga; además de que actúan como inhibidores de la acción de los oncogenes (gen anormal o maligna), previniendo su propagación, además optimizan la acción de los tratamientos para curar la hipercolesterolemia y mejoran la biodisponibilidad de hierro y zinc, entre otros elementos minerales.

En el intestino del hombre coexiste aproximadamente un kilogramo de bacterias cuya función es indispensable para la salud: es lo que se llama flora bacteriana o intestinal, (Hernández A.G., Ruíz M.D, 2010). Está concentrada sobre todo en la última parte del intestino y está compuesta por bacterias

buenas (eubióticas) y bacterias patógenas; por lo tanto la flora bacteriana se mantiene sana cuando hay más cantidad de bacterias buenas que de bacterias patógenas, ya que entre estos dos grupos se establece una guerra de colonización y de supervivencia: si prevalecen las eubióticas como (bífidobacterias, peptoestreptococos, enterobacterias, estreptococos y lactobacilos) entre otras; por tanto el organismo se beneficia de ello y se establece un equilibrio que determina salud y bienestar. **(Figura 3)**. En particular, las bacterias eubióticas se reproducen aprovechando todo lo que llega al intestino, por lo tanto, en el alimento las bacterias patógenas ya no se pueden reproducir en masa (Bello, 2005).



**Figura. 3 Colonización de bacterias eubióticas en el intestino humano (Bello, 2005)**

Las bacterias eubióticas en teoría comen de todo, pero normalmente su alimento ideal son los hidratos de carbono, sin embargo, lamentablemente la glucosa, la fructosa y la galactosa de los hidratos de carbono son asimilados por el cuerpo antes de llegar a la última parte del intestino, en donde se encuentra la flora bacteriana eubiótica; es por esta razón por la que las bacterias eubióticas tienen que hacer fermentar las fibras alimenticias (peptina e inulina) para producir sacáridos.

Cuando ganan los “patógenos”, como sucede después de una larga terapia con antibióticos o por la ingestión de alimentos contaminados o por estrés, pueden aparecer molestias: dolor de vientre, hinchazón, diarrea. También la ingestión de alimentos que contienen sacáridos; por ejemplo, legumbres de difícil

digestión para algunas personas, puede causar meteorismo (hinchazón del vientre): llegan al colon y representan el alimento ideal para las bacterias que producen gas. Con la simple alimentación cotidiana es difícil favorecer el crecimiento y el desarrollo de una buena flora bacteriana de protección.

### 2.8.2 Ejemplos de alimentos simbióticos e importancia.

Se recomienda tomar simbióticos como fermentos lácticos, probióticos asociados con sustancias prebióticas, vitaminas y oligo-elementos específicos ejemplos generales

:

- ✚ Bifidobacterias con galactooligosacáridos. ( leche en polvo con almidón )
- ✚ Bifidobacterias con fructooligosacáridos. (ácido fólico con esparrago)
- ✚ Lactobacilli con lactitol. (producto de soya con edulcorante natural.

El alimento simbiótico es el tipo de alimentos que activa y fortalece el sistema inmune; que ayuda a prevenir diversas enfermedades, entre ellas el cáncer de colon. Simbiótico “Es un concepto químico: esto es que potencia un componente sobre otro” (González Narváez A.M., Marcos Sánchez A, 2009).

Esos componentes son los probióticos, bacterias vivas que refuerzan la flora intestinal, ya que “compiten” contra las bacterias patógenas y los prebióticos, sustancias que funcionan como fibra soluble en el aparato digestivo que colaboran en la regulación del funcionamiento intestinal.

Por lo anterior se podría afirmar que los probióticos se sirven de los prebióticos para alimentarse y desarrollarse; y de la asociación de estas dos sustancias, surge una potenciación; es decir aparecen los alimentos simbióticos.

Esta selectividad fue de mostrada para *Bifidobacterias*, la cual puede ser promovida por la ingestión de sustancias tales como fructo-oligosacáridos e inulina, ejemplos: yogur, kéfir u otros fermentos. Porque la palabra aludeal, debería reservarse para productos en los cuales los componentes prebióticos selectivamente favorecen a los componentes probióticos. Es por esto, que se han realizado observaciones realizadas en modelos animales de

experimentación y en seres humanos y que por ende indican que la flora intestinal supone una gran cantidad de microorganismos comensales han evolucionado en armonía con su huésped y mejorado la salud de este último.

La flora intestinal participa en varios procesos fisiológicos, como la digestión y la motilidad, además en funciones metabólicas del organismo tales como la producción de vitaminas. También aporta a los colonocitos, sustratos como el butirato; así mismo el ácido butírico y el butirato presentes en la luz del colon tras la digestión de, por ejemplo, alimentos ricos en fibra, regulan la diferenciación de las células mucosas del intestino grueso e inducen la apoptosis, que es importante para controlar la inflamación y evitar la aparición del cáncer.

## 2.9 Bacterias ácido lácticas (BAL)

Constituyen un grupo de microorganismos unicelulares con la característica principal de producir ácido láctico mediante la fermentación de azúcares, no patogénicos, reconocidas como seguras para la salud; utilizadas en la fabricación de productos lácteos como: quesos, bebidas lácticas, bebidas lácteas y yogurt (De la Fuente, 2009).

Las BAL desempeñan un papel importante en los procesos de fermentación; ellas son muy utilizadas en la industria alimentaria, no solamente por su habilidad por acidificar y por lo tanto preservar alimentos de las esporas, sino también su implicación en la textura, sabor, olor y desarrollo de aroma de alimentos fermentados

Las bacterias lácticas producen ácido láctico rápidamente y en cantidades importantes, estas bacterias no dan oportunidad a que crezcan otros microorganismos competitivos, agrupan los géneros más utilizados en alimentos *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Carnobacterium*, *Aerococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*. (Frazier, 1993).

Son componentes fundamentales de cultivos iniciadores utilizados en la industria alimentaria responsables de la maduración de quesos y de alimentos fermentados como: vegetales, carnes, bebidas alcohólicas y productos de

panadería. También producen cambios sensoriales que aumentan el valor añadido de la materia prima. (Martínez, 1996).

Mediante la ingesta de bacterias lácticas o probióticas, se puede mantener la salud estable del consumidor a través de su resistencia contra la invasión de microorganismos patógenos que se logra por la acción bactericida de sustancias antimicrobianas como: diacetilo, ácido láctico, peróxido de hidrogeno o bacteriocinas (González, 2003). Las BAL se han empleado para la elaboración de alimentos fermentados.

En los últimos años se ha buscado, identificado y caracterizado un gran número de bacteriocinas producidas por BAL; utilizadas como bacterias probióticas en los alimentos o durante la fermentación en la industria de alimentos, lo que ha originado gran interés.

Actualmente las BAL son utilizadas como cultivos iniciadores o aditivos, dándoles el valor de un ingrediente funcional capaz de traer beneficios a la salud: generando diversos estudios sobre sus capacidades tecnológicas.

Lo más significativo de estos microorganismos es su capacidad de ayudar en la conservación de alimentos perecederos, debido principalmente a la producción de ácido láctico y otros metabolitos como ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, diacetilo y bacteriocinas. (Parvez y col., 2006; Farías y col ., 1998).

### **2.9.1 Características generales (BAL)**

Se caracterizan por ser Gram (+), inmóviles, no esporulados, productoras de CO<sub>2</sub>, no reducen nitratos, carentes de porfirinas, sistema de citocromos y fosforilación oxidativa, obteniendo por tanto energía únicamente por fosforilación a nivel sustrato, producen ácido láctico, crecen en rangos de pH desde 4.8 que les permite sobrevivir en medios ácidos, característica de importancia industrial, todas las bacterias del ácido láctico crecen anaeróbicamente, aunque algunas de ellas pueden desarrollarse en presencia de O<sub>2</sub>, son por tanto anaerobias facultativas. (Brock, 1978).

Otra de las características es que son incapaces de sintetizar ATP por respiración, lo cual es un reflejo de su incapacidad para sintetizar citocromos y

otras enzimas que contengan grupos hemo. A consecuencia de este aspecto es que son catalasa negativa y por tanto no pueden descomponer el agua. La ausencia de actividad catalítica es fácilmente mostrable por ausencia de formación de  $O_2$ . Las colonias de las bacterias del ácido láctico siempre son pequeñas, no pigmentadas, con aspecto blanco. (Stanier y col., 1992).

La identidad morfológica de las BAL comprende especies en forma de coco: (*Streptococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Tetragenococcus*, y *Leuconostoc*) y bacterias en forma de bacilo (*Lactobacillus* y *Carnobacterium*). (Fig.4).

Todas las bacterias lácticas son sacarolíticas presentan requerimientos nutricionales complejos que los ayuda a restringirse a medios ricos en nutrientes como el tracto intestinal y la leche. Se encuentran en hábitats asociadas a las plantas otras forman parte de la flora natural del cuerpo, encontrándose en la nasofaringe y la vagina. (García, 2006).

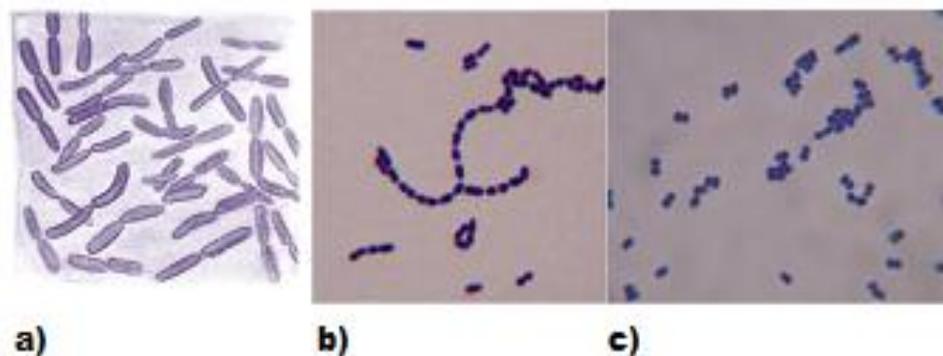


Fig. 4 Forma y disposición de las células en tres géneros de bacterias del ácido láctico

a) *Lactobacillus* b) *Streptococcus* c) *Pediococcus*

(Stanier, 1992).

## 2.10 Hábitat de las BAL.

Las BAL son nativas del tubo digestivo de mamíferos, también se encuentran en boca y vagina (Fernández- Escartín, 2000), de ambientes ricos en nutrientes como vegetales, productos de la pesca, lácteos fermentados y productos cárnicos como parte de la microbiota normal del alimento

(Fernández- Escartín, 2009; Saito et al., 2005; Vaughan et al., 2005). Así mismo pueden estar presentes normalmente en una diversidad de alimentos tanto crudos (frutas y verduras), procesados (lácteos, carnes), como madurados (Fernández- Escartín, 2009). También se han aislado de madera y suelo (Tannock, 2001), por lo que se ha llegado a pensar que son ubicuas (Stanier, 2006).

### **2.10.1 Importancia de las BAL**

Las BAL proporcionan características organolépticas específicas como es en el caso de las carnes y productos lácteos fermentados (Lash et al., 2005); debidas a la producción de diversos metabolitos (Savadogo et al., 2006; Matijasic et al., 1998). Se han considerado como bacterias no patógenas (Saltio, 2004), juegan un papel importante en la industria de alimentos y productos fermentados, mejorando la calidad sanitaria del alimento al inhibir la biota competitiva la cual incluye a los microorganismos patógenos (Cintas, 2001). Así mismo se reconoce que la leche materna es un factor importante en la presencia una gran variedad de BAL en la microbiota del intestino de los neonatos, (Ramírez Cuenca M.S, 2005). El intestino del humano es un ecosistema complejo, en donde el número de microorganismos presentes en la porción final es de aprovechamiento  $10^{11}$  bacterias por gramo, esta microbiota es el resultado de interacciones entre bacterias, hospedero y medio externo y tiene una importancia fundamental en el individuo sano y en el enfermo (Roberfroed, 2000).

Actualmente hay cepas de BAL, que han sido manipuladas genéticamente, transfiriéndoles genes, modificando sus vías metabólicas y arreglando su DNA, de acuerdo a los intereses de la industria, así mismo hay otras cepas capaces de producir compuestos denominados bacteriocinas.

## 2.11 Rutas metabólicas principales de degradación de azúcares por BAL

Existen dos rutas principales por las que las BAL degradan hidratos de carbono las cuales podemos clasificarlas en homofermentativas y heterofermentativas. El grupo de las homofermentativas únicamente producen ácido láctico, y las del grupo heterofermentativas producen otras sustancias además del ácido láctico, acetato, etanol y CO<sub>2</sub> (MacFddin, 2003).

Las bacterias Homofermentativas producen un 70% de ácido láctico, *L.bulgaricus*.

Las bacterias heterofermentativas producen alrededor de un 50% de ácido láctico. *L. casei*. (Cobo, 2001).

La diferencia entre los subproductos de las BAL se encuentra los productos que forman durante la fermentación de carbohidratos (**cuadro 6**).

**Cuadro 6. Balance de fermentación representativa de dos bacterias del ácido láctico homofermentativas y heterofermentativas**

<b>Productos</b>	<b><i>Streptococcus liquefaciens</i> (homofermentativo)</b>	<b><i>Leuconostoc dextranicum</i> (heterofermentativo)</b>
<b>Ácido láctico</b>	<b>173</b>	<b>83.5</b>
<b>Ácido acético</b>	<b>23</b>	<b>11</b>
<b>Acido fórmico</b>	<b>6.6</b>	<b>-</b>
<b>CO2</b>	<b>6.6</b>	<b>86.5</b>
<b>Etanol</b>	<b>2.0</b>	<b>81</b>
<b>Glicerina</b>	<b>14.1</b>	<b>24</b>

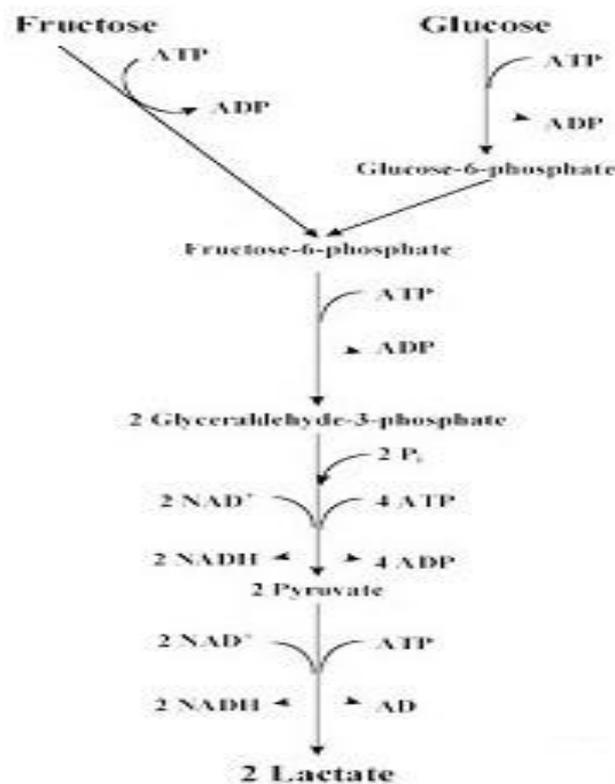
Milimoles formados por cada 100 milimoles de glucosa fermentados (Brock, 1978)

### 2.11.1 Vía homofermentativa

Grupo BAL también llamado como homolácticos transforman un mol de glucosa a través de la vía glucolítica de Embden-Meyerhof-Parnas para formar dos moles de piruvato y dos de lactato (e.j. *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* y el grupo I *Lactobacilli*.) (Figura 5).

Enzimas clave:

- Aldolasas: responsables en la transformación de hexosas difostato a gliceraldehído 3P.
- Piruvato kinasa (PK), esencial para la formación de piruvato.
- Lactato deshidrogenasa (LDH) cataliza la transformación del piruvato a lactato. (Romero del Castillo, 2004).



Producto final: Ácido láctico  
Ganancia neta: 1 ATP

Figura 5. Vía Embden-Meyerhof-Parnas (Mirrey, 2007)

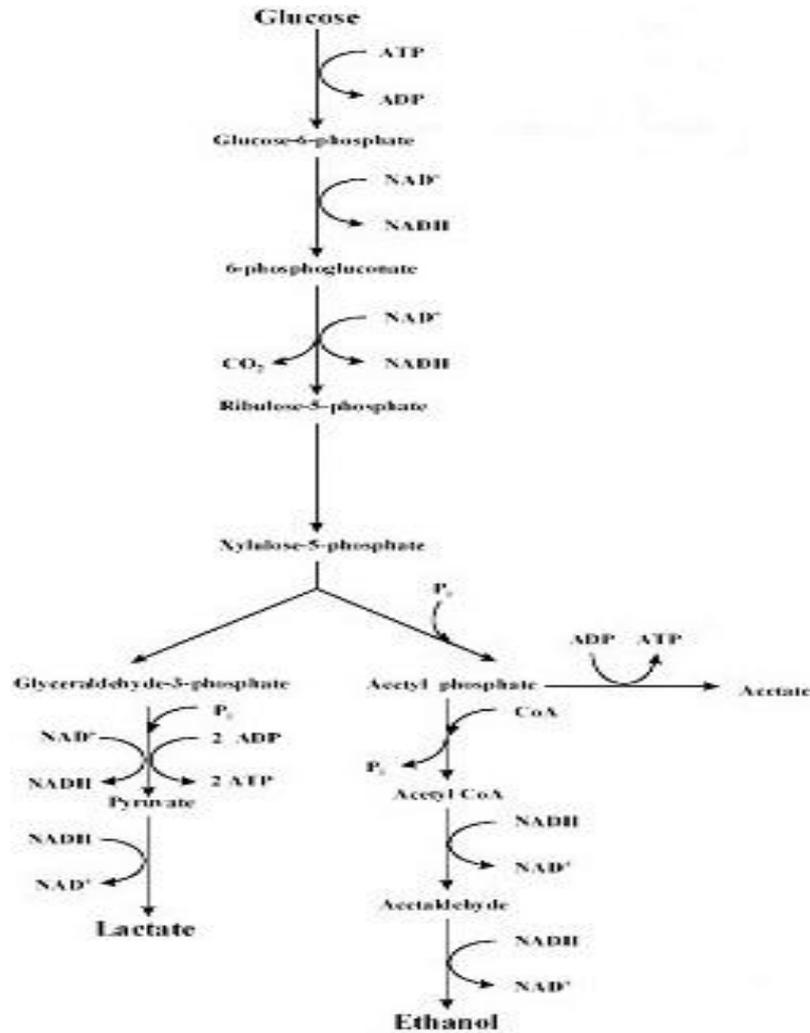
### 2.11.2 Vía del fosfogluconato

Las bacterias ácido lácticas heterofermentativas utilizan la ruta de las pentosas fosfato o del fosfogluconato en la que un mol de glucosa-6-fosfato es oxidada a 6-fosfogluconato, luego descarboxilada para producir un mol de CO<sub>2</sub> y el resultante pentosa-5 fosfato es disociada en un mol de fosfato de gliceraldehido y un mol de acetilfosfato por medio de una fosfocetolasa, la producción de CO<sub>2</sub> es una forma de detectar a un heterofermentador.

El fosfato de gliceraldehido se metaboliza luego en ácido láctico con producción de un mol de ATP, tal como en la reacción de los homofermentadores, mientras con el acetilfosfato acepta electrones del NADH generando durante la producción del fosfato pentosa reduciéndose a etanol vía los intermediarios acetil-coA y acetaldehído sin producción de ATP. Los productos finales ácido láctico, acetato, etanol, incluyendo 1 mol de ATP. (Brock. 1978).

La presencia de glucosa-6-P-deshidrogenasa y de fosfocetolasa permite el metabolismo por ruta del 6-P-gluconato. La fosfocetolasa hidroliza el 6-P-gluconato a CO<sub>2</sub> y pentosa 5-P, que a su vez se convierte en gliceraldehido -3-P y acetil-P (Romero del Castillo, 2004). Las BAL obligatoriamente heterofermentativas son *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella*, y el grupo III *Lactobacilli*.

Fermentación de la glucosa por bacterias del ácido láctico heterofermentativas.  
**(Figura 6)**



Productos: 1 mol de Ac. Láctico, 1 etanol+ CO<sub>2</sub>+ Acetato

Ganancia neta: 1 ATP

Figura 6. Ruta de las pentosas fosfato o del fosfogluconato (Brock, 1978)

## 2.12 Factores de crecimiento de BAL.

### 2.12.1 Temperatura.

Ejercen crecimiento a una temperatura óptima rango de 25°C y 30°C. Para bacterias mesófilas, aunque existen bacterias termófilas capaces de crecer a temperaturas altas de entre 35°C Y 45°C. (Romero del Castillo, 2004).

### **2.12.2 Oxígeno y pH.**

Las bacterias lácticas se desarrollan con un pH óptimo de crecimiento que se sitúa entre 4 y 4.5, son anaerobias facultativas; es decir que pueden desarrollarse en presencia o ausencia de oxígeno (Rodríguez, 1994).

### **2.12.3 Medios de cultivo.**

Estos microorganismos lácticos necesitan carbohidratos como glucosa y lactosa como fuente de carbono y para la obtención de energía ATP. Utilizan las proteínas de la leche y de los extractos de carne, los péptidos aminoácidos específicos y derivados de ácidos nucleicos para el suministro de N<sub>2</sub> necesario para la síntesis de proteínas. Y vitaminas del Complejo B como catalizadores de reacciones enzimáticas. (Cobo, 2001).

Las BAL, son muy selectivas ya que se desarrollan en medios ricos de vitaminas, bases nitrogenadas, y fuentes de carbono, muy especialmente vitaminas B, aminoácidos, péptidos, bases puricas y pirimidicas. Los medios de cultivo más utilizados para su selección, aislamiento y cultivo de estos microorganismos lácticos entre los principales está el agar MRS (Man-Rogosa-Sharpe); agar APN (Actidiona-polimixinanitrito); agar lee y agar de Chalmers, (Ramírez, 2005).

### **2.13 Agar MRS**

Es un medio de cultivo que permite el desarrollo de muchas especies de bacterias lácticas, fue creado por Man, Rogosa y Sharpe. Constituye peptona y glucosa como fuente de carbono, magnesio, manganeso y acetato, aportan cofactores y evitan el desarrollo de m.o.s. pues ejercen actividad inhibitoria, como el citrato de amonio que inhibe bacterias Gram (-). (Britanialab).

### **2.14 Importancia y aplicación industrial de Bacterias Lácticas como conservadores de alimentos.**

Producen ácido láctico que sirve como factor que limita el crecimiento de bacterias no tolerantes a pHs bajos, por lo tanto evitan el desarrollo de microorganismos que causan el deterioro de los alimentos, le confiere a los

alimentos aromas y sabores deseados obtenidos de “natas”, mantequillas, yogurt, etc. Son bacterias que contribuyen a la acción antiséptica a partir de ácido láctico en el intestino. (Carr, F., Chill, D. and Maida, N, 2002).

Además producen ácidos orgánicos (láctico y acético), peróxido de hidrógeno con actividad inhibitoria, diacetilo sustancia responsable del sabor y aroma a mantequilla, etanol (puede provocar lisis celular de otras bacterias), ácido fórmico, ácido benzoico, enzimas bacteriolíticas, muy especialmente las bacteriocinas con capacidad bactericida que tienen un interés considerable en la seguridad alimentaria. (Rodríguez, 2008).

Existe un especial interés en su efecto de prolongación de vida de anaquel de alimentos cárnicos debido a la acidez que permite la deshidratación del alimento, no todas las BAL son efectivas, esto depende de cada bacteria empleada (Minor, 2004).

Para que una bacteria láctica pueda ser empleada como conservador de alimentos debe ser capaz de crecer a temperaturas de refrigeración, (Stiles, 1996) menciona que *Camobacterium psycicola* y *Leuconostoc gelidum* son de las pocas BAL que presentan esta condición.

Según (Huss et al., 1995) para la aplicación de BAL como conservadoras de carnes es necesario manejar las de tipo fermentación homoláctica, debido a que solo hay producción de ácido láctico, en cambio sí se usan BAL, homofermentativas generadoras de ácido acético y CO<sub>2</sub> obtendrán cambios negativos en el sabor, textura y la jugosidad y sobre todo evitar la formación de aminos biogénicas, como tiramina e histamina. **(Cuadro 7).**

**Cuadro 7. Aplicación de las bacterias lácticas para incrementar la vida media de la carne fresca y productos cárnicos**

Bacteria láctica	Microorganismo de descomposición	Carne o producto cárnico	Referencia
<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Escherichia coli</i>	Embutidos	Roca y Kalman, 1989
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Brochotrix thermosphacta</i> <i>Pseudomonas sp.</i>	Embutidos	Montel y Talon, 1993
<i>Pediococcus pentosaeus</i>			
<i>Lactobacillus sake</i>			
<i>Staphylococcus carnosus</i>			
<i>Staphylococcus warneri</i>			
<i>Staphylococcus Saprophyticus</i>			
<i>Lactobacillus Curvatus</i>	<i>Escherichia coli</i>	Embutidos	Vogel y col.,1993
<i>Lactobacillus sake</i>			
<i>Streptococcus sp</i>			
<i>Lactobacillus Plantarum</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>	Cerdo, res	Guerrero et al., 1995
<i>Staphylococcus carnosus</i>		Cerdo	Minor, 1998
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Sthaphylococcus aereus</i>	Jamón	Lowndes y Henriksson 1999
<i>Lactobacillus sake</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Embutidos	
<i>Lactobacillus alimentarius</i>	<i>Listeria innocua</i>	Embutidos	Hugas y col., 1999
			Pérez- Chabela y col., 2001

(Minor, 2004)

### 2.14.1 Uso de BAL en leches fermentadas y otros alimentos

La fermentación de la leche para la elaboración de diversos productos es una práctica muy antigua, la cual seguramente se originó sin intención durante el almacenamiento del alimento. Las leches fermentadas son productos preparados a partir de la leche entera, parcial o totalmente descremada, concentrada o sustituida, total o parcialmente con leche descremada en polvo, pasteurizada o esterilizada y fermentada por medio de microorganismos específicos, siendo las principales las BAL (García y col., 1998; Jay, 2000).

Cuando son realizadas esas fermentaciones se producen metabolitos como el ácido láctico, etanol, bacteriocinas, entre otros compuestos que conservan la leche y le imparten características organolépticas distintivas (Shidari y col., 1996; García y col., 1998; Barboza y col., 2004).

Existen una gran variedad de leches fermentadas, en las que interviene un gran número de especies de BAL y levaduras. Sin embargo, el yogur es el más ampliamente difundido en el mundo. En algunos países el consumo de estos productos es superior al de leche fresca, y se utilizan leches de diferentes especies; ejemplos, vaca, borrega, cabra y camella (García y col., 1998). Debido a que los tipos de materia prima varían, los productos se elaboran de manera distinta e inclusive los microorganismos que intervienen en su elaboración pueden variar de acuerdo con la región o de fabricante a otro. Por ejemplo el yogur en México se elabora industrialmente, siendo por muchas razones la leche fermentada la más importante y el más ampliamente difundido, el yakult, equivalente a buttermilk elaborado en Estados Unidos (Shirai y col., 1996; García y col., 1998).

La transformación de la leche en estos alimentos fermentados representa ventajas en cuanto a su conservación; ya que estos productos tienen una vida de anaquel más larga, que el de la leche natural, además presentan menos riesgos de toxiinfecciones que el producto fresco debido a los distintos compuestos antimicrobianos producidos por las BAL que intervienen en la fermentación, las cuales inhiben el desarrollo de microorganismos patógenos y productores de toxinas. Estos microorganismos no solo son los más

importantes en la industria alimentaria, sino que además, es en la industria de los derivados lácteos donde se ha alcanzado el máximo desarrollo tecnológico de estas bacterias (Torres, 2000).

Las principales funciones de las bacterias lácticas en productos lácteos son las siguientes:

- Producción de ácido
- Inhibición de microorganismos indeseables
- Reducción de riesgos higiénicos
- Coagulación de la leche
- Sinéresis del lactosuero
- Reducción del contenido de azúcares
- Formación de aromas como los producidos por el diacetilo y acetaldehído en mantequilla
- Producción de gas requerida para la formación de hoyos en ciertos tipos de quesos y la proteólisis necesaria durante su maduración. **(Cuadro 8)**.
- Disminuir la lipólisis evitando la rancidez en productos lácteos (Shirai y col., 1996; García y col., 1998, Jay, 2000; Torres, 2000).

**Cuadro 8. Bacterias ácido lácticas utilizadas en la elaboración de productos lácteos**

Productos	Bacterias principales	Usos
Yogurt	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>	Provee sabor, gusto suave y delicado, promueve la cuajada, mejora la digestión, absorción, contribuye a promover la salud.
Bebidas fermentadas a base de leche	<i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus cremoris</i> <i>Lactobacillus herveticus</i>	Añade sabor, contribuye a promover la salud.
Quesos	<i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus diacetilactis</i>	Promueve el cuajado, provee aroma y sabor.
Mantequilla madurada	<i>Lactobacillus lactis</i> <i>Streptococcus diacetilactis</i>	Promueve moderado sabor agrio y aroma.
Crema ácida	<i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus cremoris</i> <i>Leuconostoc cremoris</i> <i>Streptococcus lactis ssp. Diacetylactis</i>	Promover sabor característico (pequeñas cantidades de acetaldehído y grandes cantidades de diacetilo).
Yakult	<i>Lactobacillus casei</i>	Promueve moderado sabor agrio y aroma. Contribuye a promover la salud.

Fuente: (Torres, 2002)

Además del uso de las BAL en la elaboración de leches fermentadas y diversas variedades de queso; siendo estas las principales, estos microorganismos son utilizados en el procesamiento de carnes, bebidas alcohólicas y vegetales por

ejemplo: salchichas, jamones curados, vinos, cerveza, encurtidos entre otros.  
 (Cuadro 9).

**Cuadro 9. Aplicaciones de las principales bacterias lácticas en alimentos**

<b>Género</b>	<b>Principales especies y aplicaciones</b>
<i>Streptococcus</i>	<i>S.lactis</i> , <i>S.cremoris</i> . Mantequilla, queso, yogurt  <i>S.thermophilus</i> . Yogurt, queso.
<i>Pediococcus</i>	<i>P.cerevisiae</i> . Cerveza, carne procesable.  <i>P.halophilus</i> . Salsa de soya.
<i>Leuconostoc</i>	<i>L.mesenteroides</i> . <i>L. citrovorum</i> . Alimentos fermentados, producción de dextrán.
<i>Lactobacillus</i>	<i>L.bulgaricus</i> . Yogurt, bebidas fermentadas a base de leche.  <i>L.helveticus</i> . Queso, yogurt, bebidas a base de leche fermentada.  <i>L.acidophilus</i> . Yogurt, bebidas a base de leche fermentada, preparación de <i>Lactobacillus</i> .  <i>L.casei</i> . Quesos, leche refinada, bebidas a base de leche fermentada, preparación de <i>Lactobacillus</i> .  <i>L..plantarum</i> . Diversos alimentos fermentados, ensilajes.  <i>L.fermenti</i> , <i>L.brevis</i> . Productos fermentados.
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. bifidum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. longum</i> <i>B. adolescents</i> . Leche fermentada, preparación de bacterias lácticas. El intestino de infantes y adultos. <i>B. thermophilum</i> , <i>B. Pseudolongum</i> . El intestino de animales.

Fuente: (Torres, 2002)

## 2.15 Bacteriocinas producidas por bacterias lácticas

### 2.15.1 Definición y características

Romero del Castillo et al; 2004 las definieron como péptidos antimicrobianos de síntesis ribosomal con actividad antimicrobiana producidas por la gran mayoría de las bacterias incluso las del género Archea, sin embargo las de importancia

industrial son las que producen las BAL Gram (+). La función de las bacteriocinas es capacitar a las bacterias que las producen para sobrevivir frente a competidores. (Chen H., Hoover D.G., 2003).

Las bacteriocinas producidas por bacterias lácticas son un grupo heterogéneo de péptidos, de pequeño tamaño con actividad antimicrobiana de utilidad en la conservación de alimentos. Por su potencialidad de inhibir microorganismos patógenos, alterantes, presentan interés para la industria alimentaria en general. (Hernández, 2010).

Las bacteriocinas son proteínas antibióticas producidas por una amplia variedad de especies bacterianas. La supervivencia y la proliferación de microorganismos se pueden dar si este logra eliminar o desplazar a un organismo competente en su nicho ecológico; en donde la competencia es muy intensa debido a la diversidad de especies. Se ha sugerido que la función de las bacteriocinas, es permitir el establecimiento y permanencia de la cepa que produce en el nicho que coloniza.

Las bacteriocinas, proteínas sintetizadas a nivel ribosómico y con actividad antimicrobiana, juegan un papel importante en dicha protección y representan una estrategia importante para el control de poblaciones bacterianas patógenas causantes de enfermedades que generan un perjuicio en la salud humana como: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*, *Echerichia coli* etc.

Las bacteriocinas exhiben resistencia al calor, actividad a amplio rango de pH y a baja actividad de agua ( $a_w$ ), lo cual les confiere gran potencial para ser utilizadas como bioconservadores que incrementan la vida útil de los alimentos.

.La bacteriocina más importante es la nisina producida por *Lactococcus Lactis*, de uso legal como aditivo alimentario en muchos países. En España se permite su uso en quesos duros y en los quesos fundidos para evitar el crecimiento de *Clostridium butyricum* y *tyrobutyricum*.

Otras bacteriocinas son la pediocina PA-1, producida por *Lactobacillus plantarum* y *Pediococcus acidilacti*, que posee actividad antilisteria, y lactocina

S, producida por *Lactobacillus sake* y *Lactobacillus plantarum*. (Romero del Castillo et al., 2004).

Tagg en 1976 Indica los criterios que debe presentar una bacteriocina de bacterias Gram (+) para su consideración como compuesto antimicrobiano.

- Amplio espectro de inhibición.
- Modo de acción bactericida
- La unión de receptores específicos celulares.
- La producción de bacteriocinas por determinantes genéticos ligados a plásmidos.
- Inmunidad de la célula productora frente a su propia bacteriocina.

### 2.16 Importancia de las bacteriocinas

El aumento de la resistencia de los microorganismos a los diversos antibióticos generan la búsqueda de compuestos naturales no dañinos a la salud del consumidor (Parada y col., 2007, Savadogo y col., 2006), por lo que actualmente la utilización de las bacteriocinas como bioconservador en el control de microorganismos patógenos, es de gran interés en la industria alimentaria.

### 2.17 Bacteriocinas como conservadores de alimentos.

Muchos autores aseguran que la aplicación de bacteriocinas en la conservación de alimentos resulta más efectiva si se hace en combinación con otras barreras antimicrobianas (**pH, temperatura de almacenamiento, empaque al vacío, atmósferas, tratamientos térmicos**) que detienen el desarrollo de microorganismos patógenos o los que causan el deterioro del alimento. A mayor barrera, mayor es la dificultad de sobrevivir de estos. Las bacteriocinas además de presentar actividad antibacteriana presentan actividad antifúngica presentan características como resistencia a bajos pH<sub>s</sub>, altas temperaturas, solubilidad y a<sub>w</sub> que son factores de interés en el procesamiento de alimentos. (De la FUENTE, 2009).

## 2.18 Clasificación de bacteriocinas

De acuerdo a De la Fuente en 2009 y a Romero Castillo en 2004 se clasifican en las siguientes clases.

**Clase I. Lambiótico:** se denomina así porque tienen péptidos pequeños de <5 kDa (kilodaltons) que contienen deshidroaminoácidos y tioeter aminoácidos (lantionina y metil-lantionina). Estos se forman por una modificación posterior la traducción.

La transformación es debida a la deshidratación de los aminoácidos treonina y serina, a los que posteriormente se les adicionan átomos de azufre, procedentes a la cisteína a los dobles enlaces de los deshidroaminoácido (e.j. nisina). Esta clase se subdivide en:

**Lantibióticos Tipo A:** son péptidos largos con carga neta positiva que ejercen su actividad formando poros en las membranas bacterianas.

**Lantibióticos Tipo B:** son péptidos globulares más pequeños sin carga o con carga negativa y su actividad antimicrobiana se relaciona con la inhibición de enzimas específicas.

**Clase II. No lantibióticos:** son péptidos activos que actúan sobre la membrana citoplasmática, se caracterizan por poseer algunos aminoácidos que no contienen lantionina, son termoestables y pequeños (<10 kDa), representan el grupo más grande de bacteriocinas que se subdivide en 3 grupos.

**Clase IIa:** incluye péptidos como la pediocina con actividad anti-listeria.

**Clase IIb:** comprende bacteriocinas que requieren un sistema de dos péptidos diferentes para ejercer actividad antimicrobiana.

**Clase IIc:** corresponde a bacteriocinas secretadas por el sistema sec-dependiente

**Clase III:** incluye péptidos grandes (30 kDa) y termolábiles característica de interés en alimentos. (Se inactivan con tratamientos térmicos de 60°C-100°C durante 10-15 minutos). La mayoría de estas bacteriocinas son producidas por especies del género *Lactobacillus*. (Zapata S., Muñoz J y Ruiz O. S, 2009)

**Clase IV: bacteriocinas complejas no caracterizadas. (Cuadro 10).**

**Cuadro 10. Bacteriocinas de bacterias ácido lácticas (BAL)**

Bacteriocina	Microorganismo productor	Referencia
<b>Clase I Tipo A Lantibioticos</b>		
Nisina	<i>Lactococcus lactis</i>	Hurst, 1981
Lactocina S	<i>Lactobacillus sake</i>	Mortvedt y col.,1991
Epidermina	<i>Staphylococcus epidermis</i>	Allgaier y col.,1986
Gallidermina	<i>Staphylococcus gallinarium</i>	Kellner y col., 1988
Lactacina 481	<i>Lactococcus lactis</i>	
<b>Clase I Tipo B Lantibioticos</b>		
Mersacidina	<i>Bacillus subtilis</i>	Altena y col, 2000
Cinnamycina	<i>Streptomyces cinnamoneus</i>	Sahl y col., 1998
Ancovenina	<i>Streptomyces ssp.</i>	Sahl y Bierbaum 1998
Duramycina	<i>S.cinnamoneus</i>	Sahl y Bierbaum 1998
Actagardina	<i>Actinoplanes ssp.</i>	Sahl y Bierbaum 1998
<b>Clase IIa</b>		
Pediocina PA-1/AcH	<i>Pediococcus acidilactic</i>	Henderson y col., 1992 Motlagh y col., 1992
Sakacina A	<i>L.sake</i>	Holck y col., 1992
Sakasina P	<i>L.sake</i>	Tichaczek y col., 1992
Leucocina A-UAL 187	<i>Leuconostoc gelidum</i>	Hastings y col., 1991
Mesentiricina Y105	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Hechard y col., 1992
Enterocina A	<i>Enterococcus faecium</i>	Aymerich y col., 1996
Divercina V41	<i>Carnobacterium</i>	Metiver y col., 1998

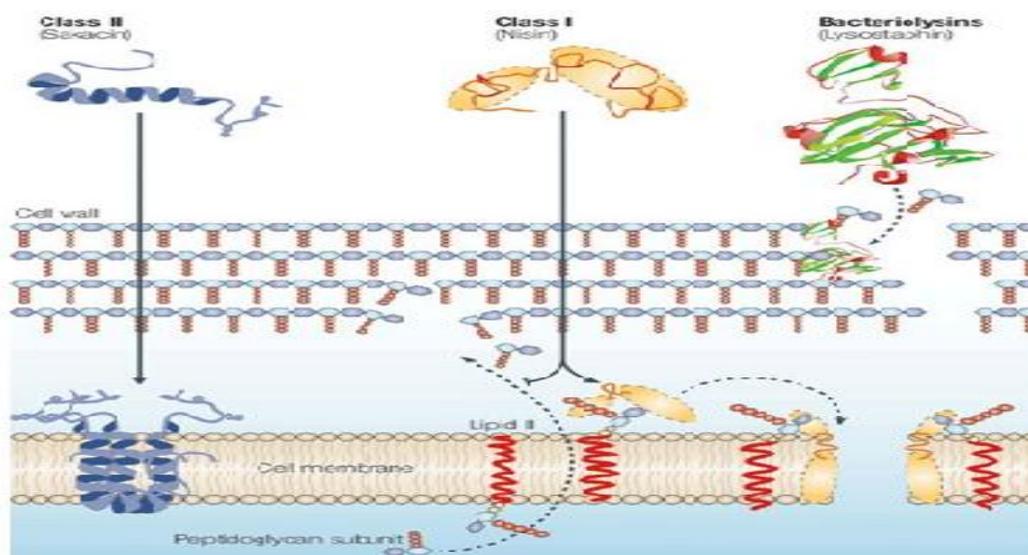
	<i>divergencis</i>	
Lactococcina MMFII	<i>L.lactis</i>	Ferchichi y col., 2001
Clase IIb		
Lactococcina G	<i>L.lactis</i>	Nissen-Meyer y col., 1992
Lactococcina M	<i>L.lactis</i>	Van Belkum y col., 1991
Lactacina F	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	Allison y col., 1994
Piantaricina A	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Nissen-Meyer y col., 1993
Piantaricina S	<i>L.plantarum</i>	Jimenez-Diaz y col., 199
Piantaricina EF	<i>L.plantarum</i>	Anderssen y col., 1998
Piantaricina JK	<i>L.plantarum</i>	Anderssen y col., 1998
Clase IIc		
Acidocina B	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Leer y col., 1995
Carnobacteriocina A	<i>Carnobacterium piscícola</i>	Worobo y col., 1994
Divergicina A	<i>C.divergens</i>	Worobo y col., 1995
Enterocina P	<i>E.faecium</i>	Cintas y col., 1997
Enterocina B	<i>E.faecium</i>	Nes y Holo 2000
Clase III		
Helvecitina J	<i>Lactobacillus heleveticus</i>	Joerger y Klaenhammer 1986
Helvecitina V- 1829	<i>L.helveticus</i>	Vaughan y col., 1992

(Modificado de Chen y Hoover, 2003)

### 2.18.1 Mecanismo bactericida de bacteriocinas.

El mecanismo de inhibición bacteriana en general se basa destruyendo la integridad de la membrana citoplasmática a través de la formación de poros, lo que ocasiona lisis celular y la salida de orgánulos o compuestos como potasio, fosfato inorgánico, aminoácidos y moléculas pequeñas necesarias para la producción de ATP y síntesis de proteínas ocasionando muerte celular. (Gonzalez et al.,2003).

Debido a una atracción electrostática por fuerzas cationicas o receptores específicos o no específicos (lípidos aniónicos) en la superficie de la membrana celular, las bacteriocinas desestabilizan la membrana, estas se adsorben inespecíficamente a células sensibles, a resistentes y a las mismas células productoras. (Martínez, 1996). **(Figura 7)** se muestran diferentes ejemplos de las clases de bacteriocinas, así como su probable modo de acción.



**Figura 7: Modo de acción de diferentes clases de bacteriocinas (Tomado de Alquicira Páez , 2006).**

### 2.18.2 Estabilidad

Las bacteriocinas presentan estabilidad cuando se someten a temperaturas mayores a  $pH_s$  ácidos, ambas propiedades están ligadas debido a que un incremento de  $pH$  reduce la estabilidad al calor. (Chen y Hoover, 2003), observaron que la pediocina PA-1 es estable durante su almacenamiento por 21 días a  $15^{\circ}C$  a  $pH_s$  de 4 a 6.

Hernández en 2002. Demostró que la Pediocina producida por *Pediococcus parvulus* MXVK 133 mantuvo su estabilidad en condiciones de congelación con un 100% de actividad durante 15 semanas a  $-20^{\circ}C$ .

Minor en 2004. Reporta que la bacteriocina producida por *Lactobacillus buchneri* presento resistencia térmica a un tratamiento a  $100^{\circ}C$  durante 20

minutos con pérdida de actividad del 15% igual que para la bacteriocina producida por *Lactobacillus paracasei*.

### 2.18.3 Espectro de inhibición.

Existen bacteriocinas que se pueden identificar por su espectro de inhibición amplio que actúan contra bacterias gram positivas y negativas.

Estudios realizados por Aguilar y col. En 2011. Reportan que las bacterias producidas por *Lactobacillus plantarum* WS4174, *P. acidilacti* P120 y *Lactobacillus mesenteroides* inhiben el crecimiento de *Listeria* spp. Demuestran que la acción inhibitoria (diámetro de halos) fue más evidente sobre *L. monocytogenes* ATCC7654 que sobre *L. innocua*.

### 2.19 Antecedentes bacteriocinas.

El primer reporte de investigación de la acción antimicrobiana de las bacteriocinas se dio a conocer cuando se descubrió un antagonista entre cepas de *Echerichia coli* que desde entonces fueron denominadas colonias. Hasta 1928 se descubrió que ciertas cepas de *Lactococcus* empleadas en la fabricación de quesos producían un efecto inhibitor del crecimiento de otras BAL y también podían inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos y los que podían alterar la conservación del queso.

De todas las sustancias antimicrobianas producidas por las bacterias lácticas, las bacteriocinas aparecen como las más adecuadas desde un punto de vista tecnológico para ser utilizadas como conservantes de grado alimentario (De Vuyst y Vandame, 1994). La inclusión de cepas bacteriocinogénicas en los cultivos iniciadores puede realizarse siguiendo 2 estrategias diferentes: i) utilizar la cepa productora como cultivo iniciador puro (Ruiz-Barba *et al.*, 1994) o bien, ii) como cultivo iniciador mixto, combinando la cepa productora con una segunda especie microbiana resistente a la bacteriocina y responsable, al menos en parte, de la fermentación (Daeschel *et al.*, 1991; Harris *et al.*, 1992).



*Clostridium botulinum* y *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, entre otros, que forman endoesporas y resisten mejor el calentamiento que las células vegetativas.

La nisina es también muy eficaz en la prevención de alteraciones del queso, especialmente quesos fundidos, producidas por *Clostridia*. La nicina no es efectiva contra las bacterias gram negativas, levaduras y moho (Collings, *et al.*, 1981).

La posibilidad de utilizar cepas productoras de nisina para conservar los alimentos fue sugerida por Hirsch *et al.* (1951). Estos autores consiguieron evitar la hinchazón tardía de los quesos (debida a la producción de gas por *Clostridium* spp.) e inhibir el crecimiento de *S. aureus*. A partir de este momento y hasta la fecha actual, la utilización de la nisina ha aumentado exponencialmente (Delves-Broughton, 1990; Delves-Broughton *et al.*, 1996).

Como ya se hizo mención se aplica con éxito en distintos productos y sistemas alimentarios, con especial referencia a la inhibición de *Listeria* y otros patógenos psicotrofos. La Nisina también se utiliza para disminuir la intesidad del tratamiento térmico de los alimentos enlatados (Fowler y Gasson, 1991), para controlar la fermentación maloláctica en vinos (Daeschel y col., 1991) y para evitar el crecimiento de bacterias lácticas durante la fabricación de la cerveza (Odgen y col., 1988).

## **2.20 Técnicas de producción y purificación de bacteriocitas**

Yang y col en 1992.Desarrollaron una técnica que se describe de la siguiente manera.

Si se ajusta el pH del caldo de cultivo de una cepa productiva, después de un tratamiento térmico para inactivar la función biológica de las células, a un valor que ocurre la adsorción de la bacteriocina a la superficie celular (usualmente pH 6 a 6.5) se permite la separación de las moléculas (adsorbidas en las células) del caldo de cultivo por simple centrifugación. Posteriormente los péptidos son liberados selectivamente de las células a pH<sub>s</sub> bajos (1.5 a 2.0), siendo péptidos con alta potencia y en forma más concentrada. Este mismo

método fue utilizado por Aguado en 2010, quien obtuvo el extracto crudo de bacteriocinas en un cultivo de 16 horas de *Enterococcus faecium*, el cual fue sometido a un tratamiento térmico a 70°C; se ajustó el pH a 6 y después se sometió a liofilización a -20°C hasta su uso.

## 2.21 Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por bacteriocinas

### 2.20.1 Antibiogramas

Se realizan técnicas como la de difusión en discos en lo que se adiciona la bacteriocina en un pocillo realizado en un medio de cultivo sólido sobre discos de papel que se colocan sobre agar pre-inoculado con una cepa indicadora (De la fuente, 2009). Se pueden colocar hasta 5 discos en una placa de 100 ml, se incuban según el tiempo y temperatura determinados, posteriormente realizando la medición de las zonas de inhibición con luz transmitida. (Stephen et al., 2005).

Trabajos realizados por Zapata en 2009, que evaluaron la actividad bactericida de *Lactococcus plantarum* con el método de difusión en disco en agar Mueller-Hilton inoculado con la cepa indicadora correspondiente. En la superficie de agar se depositaron discos de papel filtro de 7 mm de diámetro y tamaño de poro de 100 µl, previamente esterilizados. Los discos se impregnaron con 20 µl de la solución y las cajas se incubaron durante 18 horas a 37°C. La actividad se expresó como la diferencia en milímetros entre el radio del halo de inhibición y el radio del disco de papel filtro. Manejando como cepas indicadoras: *Lactobacillus brevis*, *Klebsiella sp.*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis* y *Serratia marcescens*, *Salmonella typhi* (ATCC 6539), entre otras.

**2.20.2 Métodos enzimáticos.** Estudios realizados por Morgan y col en 1995. Mencionan que se realiza la medición de enzimas liberadas del interior celular después de la lisis producida por la acción de las bacteriocinas. Por ejemplo, se han observado elevados niveles de lactato deshidrogenado después de la lisis de células susceptibles a Lactocina. Son eficaces, sin embargo su precisión se ve comprometida por la cantidad de preparaciones crudas de las bacteriocinas que pueden estar contaminadas con otras enzimas antes de analizarse y pueden generar resultados positivos falsos.

## Capítulo 3

### 3.1 Conclusiones

El consumidor es cada día más exigente con la alimentación y la tecnología de alimentos investiga, día a día, cómo mejorar la nutrición y contentar al consumidor. El desarrollo de (AF) promete incrementar la calidad de vida, en especial en aquellos grupos más débiles, como lo son los niños de corta edad y personas mayores.

Al mismo tiempo existe la necesidad de profundizar en el conocimiento tanto de las interacciones entre sí de los diferentes componentes de los alimentos, como de los mecanismos que subyacen a su acción funcional, sobre todo en lo que se refiere a su efecto específico en el organismo.

Cabe destacar que las bacterias ácido lácticas desde la antigüedad y hasta el tiempo presente, han representado una gran utilidad biotecnológica en el área de los alimentos; es necesario resaltar que nosotros como consumidores muchas ocasiones no tenemos la noción de lo que estamos ingiriendo, es por ello que se han realizado una gran cantidad de estudios para determinar las relaciones de los componentes alimenticios y sus efectos funcionales sobre la salud humana, por ejemplo en la biopreservación de alimentos utilizando bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas, tendrán un éxito mayor en la aplicación de alimento, tal es el caso de la carne, y también en el control de microorganismos patógenos como *Salmonella* y *Echirichia coli*.

En un futuro se espera ampliar la acción de BAL sobre otras especies perjudiciales para la humanidad. Aún quedan muchos microorganismos por investigar y muchas rutas metabólicas que, en el futuro se pueden conocer y mejorar; alimentos más sanos, bien conservados, sin sustancias tóxicas, nutritivos, que aporten el mayor número de micronutrientes que se necesitan para alimentarse y funcionar bien, beneficiosos que prevengan de disfunciones fisiológicas que pueden degenerar en enfermedades graves.

Por lo que se puede definir como alimentos sanos y seguros a todos aquellos productos alimenticios que, por no contener microorganismos patógenos ni

sustancias tóxicas hacen que su consumo no pueda ocasionar ningún tipo de trastorno fisiológico, o no poner síntomas de alguna enfermedad.

Se trata por lo tanto, de alimentos que han sido manipulados de modo adecuado a lo largo de todas las etapas desde el inicio de su producción hasta su consumo, por lo que resulta bastante ilógico el que pueda ocasionar daño o enfermedad. Puede afirmarse, por lo tanto, que la propiedad de sano y seguro responde a una característica que, desde un punto de vista general, ha de ser exigido a todo alimento que tome parte de la alimentación humana.

## Capítulo 4

### 4.1 Recomendaciones y perspectivas futuras de los Alimentos Funcionales.

La tecnología de elaboración de bebidas no tradicionales con inoculación de BAL se espera lograr con gran auge, por ejemplo actualmente bebidas a partir de lactosuero obteniendo resultados aceptables al consumidor se están desarrollando.

Un campo importante que se desarrollará será la utilización de BAL silvestres, por ejemplo actualmente los procesos panificación han ido evolucionando empleando BAL, sin embargo es necesario seguir investigando para ampliar el campo de acción de estas bacterias silvestres.

En el futuro los alimentos funcionales con bacterias ácido lácticas tendrán un mayor consumo y existirán variedad de productos disponibles en el mercado. Se espera que haya descubrimiento de nuevas bacterias y por ende nuevos productos biotecnologías con nuevos hallazgos benéficos nutriciones y terapéuticos que estén disponibles al consumidor desde la infancia hasta la tercera edad.

Se recomienda consumir productos lácteos fermentados como yogurt, bebidas lácteas, leches cultivadas y quesos, a los que se ha agregado cultivos vivos y conocidos como *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*; entre otros alimentos que no son lácteos, pero contienen cultivos beneficiosos como el chucrut (bebida fermentada de col con sal y vino), bebidas de soya entre otros. La evidencia

científica es la única garantía que permitirá el conocimiento de las verdaderas funciones de los AF así como de su correcta utilización.

En la medida que los efectos de los AF estén sustentados por estudios científicos sólidos, el consumidor podrá disponer de información certera para poder optar a elegir el que mejor le convenga.

El mensaje más conveniente se debe orientar hacia ingerir Alimentos Funcionales que supongan un beneficio adicional sobre la salud.

## Capítulo 5

### 5.1 Referencias bibliográficas

**Aguilar Rivera C. Venegas López M.C.** (2001). Bacterias Acido lácticas productoras de bacteriocinas. Revista Alimentos Hoy. ACTA - Asociacion Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Núm. 12. Pág.4

**Alais C., Lacasa Godina A** (2003). Ciencia de la leche, Editorial Revene, S.A. Barcelona España. Pág. 359-362..

**Almudena A., Lizaso** (2001). Nitritos, nitratos, y nitrosaminas. Revista Fundación Ibérica para la seguridad alimentaria. Pág.2-3

**Alquicira Páez L.** (2006). Determinación del mecanismo de resistencia a la acción inhibitoria de bacteriocina producida por *Pediococcus parvutus* MXVK 133. Universidad Autónoma Metropolitana. Pág. 41

**Aranceta Bartrina J., Serra Maiem L., Requejo Marcos A.M., Mateos Guardia J.A., Marcos Sánchez A., Ortega Anta R.M.** (2002). Alimentos Funcionales Probióticos y prebióticos. Editorial Panamericana. Cap. 4.

**Ausina Ruiz V., Moreno Guillen S.** (2005). Tratado de enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica. Editorial Médica Panamericana. Madrid España. Pág. 228-237.

**Brock T.D.** (1978). Biología de los microorganismos. Editorial Omega, S.A. Barcelona.

**Burr G, Hume M, Ricke S, Nisbet D, Gatlin III D.** (2010). In vitro and in vivo evaluation of the prebiotics GroBiotic-A, inulin, mannanoligosaccharide, and glactooligosaccharide on the digestive microbiota and performance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* x *Morone saxatilis*). Microb Ecol. Vol. 59 Pp. 187-98.

**Carr, F., Chill, D. y Maida, N.** (2002). The lactic acid bacteria: A literature survey. Critical Reviews in Microbiology. Vol. 28(4) Pág. 281-295.

**Castro R.** Determinación de los sitios óptimos para establecimiento de Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) en las comunidades agrícolas de la IV región con fines reproductivos y de recuperación de suelos. Proyecto CORFO 2004.

**Chen H., Hoover D.G.** (2003). Bacteriocins and their food applications. *Comprehensive Reviews in food Science and Food Safety*. Pág 82-100.

**Choi, S. y Chung, M.** (2003). A review on the relationship between Aloe Vera components and their biologic effects. *Seminars in Integrative Medicine* 1, 53-57.

**Cobo J.M.** (2001) .Bacterias Saludables. Alimentación, Nutricion, Dietetica. Libro de Ponencias. V Congreso Internacional Madrid España. Pág.1-2.

**De la Fuente Salcido N.M.** (2009). Biosíntesis y actividad de bacteriocinas producidas por cepas Mexicanas de *Bacillus Thuringiensis* con potencial de aplicación como bioconservadores en alimentos. Universidad Autónoma de Nuevo León. Pág.21-23.

**De León, A., L. González, A. P. Barba, P. Escalante y M. G. López.** (2006) Characterization of volatile compounds of mezcal, an ethnic alcoholic beverage obtain from *Agave salmiana*. *J. Agr. Food Chem.* Vol 54, PP. 1337-1341.

**Departamento de Bioquímica y biología molecular y celular, U. Z.** (2004). **Guion de prácticas.** Fundamentos de metodología bioquímica. (Área Bioquímica). Universidad de Zaragoza. Pág. 22

**Domínguez R., Arzate I., Chanona J., Welti J., Alvarado J., Calderón G., Garibay V., Gutiérrez G.** (2012). Importancia del Aloe vera: Estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia en la industria farmacéutica y alimentaria. *Revista Mexicana de Ingeniería Química.* Vol. 11, núm. 1. Pp. 23-27

**F.A.O., O.M.S.** (2003) Diet, Nutrition and Prevention of Chronic Diseases. FAO and OMS Technical Report Series.

**F.A.O., O.M.S.** (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. FAO and OMS Working Group Report (online).

**F.A.O. O.M.S.** (2001). Regulatory and clinical aspects of dairy probiotics. FAO and OMS. Expert Consultation Report. Working group Report.

**Frazier W.C., Westhoft D.C.** (1993) Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia S.A. España Pág.67.

**Flores A., R. Mora y L. Romero.** (2008). Evaluación fisicoquímica del aguamiel de tres variedades de maguey pulquero. Editorial España. Vol 8. Pág 53-58.

**Gaon D, Garcia H, Winter L, Rodríguez N, Quintas R, Gonzalez SN y Oliver G.** (2003) Efecto de cepas de *Lactobacillus* y *Saccharomyces Boulardii* sobre la diarrea persistente en niños. Medicina. Pág. 4 - 8.

**García Garibay M, Quintero Ramírez R., López Munguia A.** (2004). Biotecnología alimentaria. Editorial Limusa, México. Pág. 190.

**Giovannuco y Winter L.** (1998) Intake of carotenoids and retinol to risk of prostate cancer, Journal of the national cancer institute. Pág. 167- 177.

**Guias Mundiales de la WGO.** Probioticos y prebióticos. World gastroenterology Organisation, 2011.

**González Martínez B.E., Gómez Treviño M. y Jiménez Salas Z.** (2003) Bacteriocinas de Prebióticos. Revista Salud Pública y Nutrición. Vol. 4 Núm. 2.

**Goulas T, Goulas A, Tzortzis G, Gibson GR.** (2009). Expression of four  $\beta$ -galactosidasas from *Bifidobacterium bifidum* NCIMB41171 and their contribution on the hydrolysis and synthesis of galactooligosaccharides. Appl Microbial Biotechnol. Vol. 84. Pp.899-907.

**Hernández A. G., Ruiz M.D.** (2010). Tratado de Nutrición Composición y calidad nutritiva de los alimentos. Madrid: Medica Panamericana, D.L. Pág.542.

**Hernández López J.C.** (2002). Caracterización parcial de la bacteriocina producida por *Pediococcus parvalus* MXVK 133. Universidad Autónoma Metropolitana. México. D.F.

**Marteau P, Vesa T, Rambaud JC.** (1997). Lactose malabsorption. In Fuller R, ed. Probiotics 2: applications and practical aspects. London: Chapman & Hall, : 65-88.

**Martinez Fernandez B.** (1996). Bacteriocinas de *Lactococcus lactis* aislados de quesos asturianos: Nisina Z y Lactococina 972 Universidad de Oviedo. Pág. 1-4

**Meance S, Cayuela C, Raimondi A, Turchet P, Lucas C, Antoine JM.** (2003).Recent advances in the use of Functional Foods: effects of the commercial fermented milk with Bifidobacterium. Microbial Ecology in Health and Disease Vol 15. No 1 Pág: 15 - 22.

**Monrroy Castro, F.J. Fernández P. and M Lacroix.** (2009). Bacteriocinas producidas por bacterias probióticas. Pág. 63-72.

**Muñoz M, Aranceta J, García Jalón I.** (2004). Nutrición aplicada y dietoterapia (Vol 4). Pág. 41-56

**Núñez., Cayre M.E., Castro M.p., Garro O. A.** (2007). Efectividad y modo de accion de Nisina sobre Lactobacillus. Revista Mundo lácteo y cárnico Pág. 28-29.

**Ramírez Cuenca M.S.** (2009). Actividad inhibitoria de cepas de bacterias ácido lácticas frente a bacterias patógenas y deterioradoras de alimentos. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pág. 4-6.

**Stanier R.Y., Ingraham J.L., Wheelis M.L.Painter P.R.** (1992). Microbiologia Ed.Reverte S.A. Pág. 532.

**Stiles, J. Cavalieri, Coyle M.B.** (2005). Manual de pruebas de susceptibilidad Antimicrobiana American Society for Microbiology. Pág. 229.

**Tagg, J. R., Dajani, A. S. y Wannamarker, I. W.** (1976). Bactericins of Gram Positive bacteria. Bacteriol. Rev. 40: 722-756.

**T'Hart L.A, Van den Berg A.J.J, Kuis L, Van Dijk H, Labadie R.P.** (1989) An anti-complementary polysaccharide with immunological adjuvant activity from

the leaf parenchyma gel of Aloe vera. *Plantas Medicinales*. Vol. 55, Pp. 509-514.

**Vanegas M.C., González L.M., Arévalo, S.** (2010). Capacidad bactericida de *Bifidobacterium sp.* Aislada de leche materna y de heces de neonatos, frente a los principales causantes de enfermedades transmitidas por alimentos. Asociación colombiana de infectología. *Revista Infección* 14(4): 241-247. Pág.245-247.

**Viña J. R; Pallardo, V y García. C.** (1997). Nutrición y Vitaminas: Aspectos Básicos Clínicos de la Suplementación. *Rev. Nutrición Práctica*. (1): Pág. 53-57.

**Zapata S., Muñoz J., Ruiz O. S., Montoya O.I., Gutiérrez P.A.** (2009). Aislamiento de *Lactoabcillus Plantarum* y caracterización parcial de bacteioicinas. *Revista Vitae* Vol. 16 No. 1.