

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

PROBIOTICOS Y PREBIOTICOS

Por:

RAÚL FAJARDO PEREGRINA

MONOGRAFIA

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 el comité de tesis.

Asesor Principal

Sinodal

M. C. Oscar Noé Reboloso Padilla.

M. C. Xochitl Ruelas Chacón.

Sinodal

Sinodal

Dra. Ma. De Lourdes Morales Caballero.

M. C. María Hernández González.

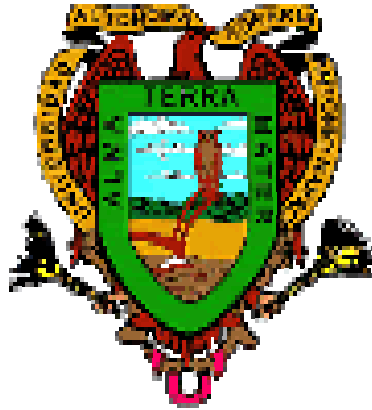
Coordinador de la División de Ciencia Animal

Dr. Ramón F. García Castillo.

Buenavista, Saltillo, Coah. México.
Diciembre del 2004

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"**

DIVISIÓN DE CIENCIA ANIMAL



PROBIOTICOS

Y

PREBIOTICOS

Por:

RAUL FAJARDO PEREGRINA

MONOGRAFIA

Presentada como requisito parcial para obtener
el título de:

INGENIERO EN CIENCIA Y TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Buenavista, Saltillo Coah, México. Diciembre del 2004

D E D I C A T O R I A

A DIOS Y LA VIRGEN DE GUADALUPE:

Por que al estar lejos de mis seres queridos siempre me dieron esa paz interior y me iluminaron para seguir adelante en mis estudios y en mi vida cotidiana. Por darme la dicha de estar en una familia tan linda como la que tengo. Además de que siempre que los he necesitado han estado a mi lado de manera espiritual.

A MIS PADRES:

- ♥ **Sr. RAMIRO FAJARDO FRANCO**
- ♥ **Sra. PATRICIA PEREGRINA CONTRERAS**

Por el inmenso amor, cariño y comprensión que me han dado a lo largo de estos años. También por la gran labor y esfuerzo que han hecho para educarnos, a mí y a mis hermanas, además por guiarnos por el camino de la honestidad y el respeto hacia los demás. A ustedes que nunca han escatimado esfuerzos para ayudarnos a cumplir nuestros más anhelados sueños. Que dios los bendiga y guarde para siempre y sepan que los amo profundamente.

A MIS CINCO HERMANAS:

- ♥ **María del Rayo (Niña)**
- ♥ **Susana (Peque)**
- ♥ **Patricia (Lulú)**
- ♥ **Raquel (Güera)**
- ♥ **Ruth Estefanía (Enano)**

Con mucho amor, por que ustedes han sido la gran fuente de inspiración, al igual que mis padres, para poder vencer los obstáculos que han surgido a lo largo de mi vida y mi carrera. También, por que han sido las compañeras a lo largo de mi vida y han estado siempre a mi lado en las buenas y en las malas. Por esto y mil cosas más, muchas gracias y sepan que las amare y las llevare con migo por siempre.

A MIS ABUELOS:

- ♥ **MODESTO FAJARDO AYALA (Papá Ramiro)**
- ♥ **MA. LUISA FRANCO JIMÉNEZ (Mamá María)**
- ♥ **BAUDELIO PEREGRINA GLEZ (Papá Yeyo)**
- ♥ **ERMILA CONTRERAS VÁZQUEZ (Mamá Milia)**

Por que han influido a lo largo de mi vida de una manera positiva, además de que siempre han estado con migo en los momentos de tristeza y felicidad tendiéndome su mano con gran sinceridad como muestra de apoyo o simplemente elevando una oración a dios, nuestro señor, en los momentos que estuve lejos de ustedes, además de ser un ejemplo a seguir por su amor de padres. Que dios los llene de bendiciones; siempre los llevare en mi corazón.

A todos mis **TÍOS** y **PRIMOS** porque con ellos he compartido momentos dulces y amargos a lo largo de mi vida y siempre hemos seguido hacia adelante.

A G R A D E C I M I E N T O S

A **MI ALMA TERRA MATER.** Por haberme resguardado en su seno y el haberme brindado la oportunidad de formarme como profesional.

Al **M.C. OSCAR NOE REBOLLOSO PADILLA.** Por el gran apoyo brindado el la realización de este trabajo, al igual por haberme transmitido sus conocimientos a través de estos años, además por haberme brindado su amistad MIL GRACIAS.

A la **M.C. XOCHITL RUELAS CHACON.** Por su ayuda, tiempo prestado y comprensión brindados para la realización del presente trabajo y durante toda mi carrera. Y muchas gracias por su valiosa amistad.

A la **DRA. LOURDES MORALES CABALLEROS.** Por su tiempo brindado y su valiosa aportación para la realización del presente trabajo. Además por sus valiosos consejos durante mi carrera un millón de gracias.

A la **M.C. MARIA HERNANDEZ GONZÁLEZ.** Por su valiosa cooperación en la revisión y corrección del presente trabajo. Además por su amistad y consejos, los cuales me ayudaron en mi carrera y esa confianza puesta en mi persona.

A todos los **MAESTROS** y **LABORATORISTAS** que me impartieron clases a lo largo de mi carrera profesional, por su valioso tiempo brindado y sus conocimientos impartidos, los cuales me serán de mucha ayuda en el futuro.

A los **MAESTROS** que tuve durante toda mi vida como estudiante, los cuales sin importarles mi manera de ser me transmitieron sus conocimientos y me ayudaron a lograr lo que ahora soy y por su ardua labor en el área del saber. De una manera especial quiero agradecer a los siguientes: (*Primaria*) Héctor Navarrete, Ma. Luisa Martínez, Ana Ma. Vázquez, Teresa López, (*Secundaria*) Irma Lorena Mejía, Domingo Manuel Quí (†), Ma. Del Carmen Nuñez, José Gpe. De la Cruz, (*Bachillerato*) Ramiro Fajardo, Ignacio Peregrina, Consuelo Lizarraga, Teresa Larios; por haber influido de alguna manera para que naciera en mi la inquietud de seguir estudiando hasta terminar una carrera profesional, por todo eso MIL GRACIAS.

A TODOS LOS QUE INTEGRARON EL GPO “**A**” **AGROP. DEL C.B.T.a 19 DE SAYULA JALISCO GEN. 96 – 99.** Por los tres años inolvidables que compartí con ustedes y por seguirme dando su sincera amistad *GRACIAS MUCHACHOS*, siempre viviré agradecido con ustedes.

A **MIS AMIGOS DE TODA LA VIDA.** Arturo Hdz., Juan José Rdz., Daniel Cortez, Carlos Florentino Hdz., Oscar Almejo, Agustín Cárdenas, Myriam Aceves, Laura Montes, Juan José Flores, L. Nery Vargas, L. Alberto López, Juan de Dios y Porfirio Calvario, Enoc López, Saúl y Mateo Rdz, Martín Coronel, Don Simón Manzano, Arturo, Gabriel, David y Ana Rosa García; Ana Barreto; J. Carlos, Daniel y C. Oswaldo Alfaro; Ignacio Díaz, Chuyin, Adriana Campos, Miguel Angel Machuca, Fco. Hernández. *A todos ustedes y a los que por alguna razón omití, mil gracias por la paciencia que me han tenido y por brindarme su valiosa amistad.*

A mi tío **JUAN MANUEL FAJARDO Y FAM.** Por el apoyo que me han brindado a través de mi vida y principalmente durante mi carrera profesional. Además de ser un ejemplo a seguir como persona y como profesionista al igual que sus hijos y esposa.

A mis tíos **GUADALUPE GARCIA (epd), MARGARITA PEREGRINA Y FAM.** Por el apoyo brindado a lo largo de mi vida y principalmente por su ayuda durante mi proceso de titulación a pesar de haber sufrido un duro golpe en sus vidas. Solo quiero decirles que viviré agradecido eternamente con ustedes y cuenten con migo para siempre.

A la **Sra. MARIA ELENA RAMIREZ Y FAM.** Por el apoyo brindado desde el comienzo de mi carrera profesional y su invaluable amistad que me han brindado durante todos estos años que tengo de conocerlos *MUCAS GRACIAS.*

A Don **GONZALO RESENDIZ** y Don **CARLOS.** Por haberme cobijado en su seno durante estos años y el gran afecto mostrado ya que me hicieron sentirme como en casa. Además a todos los muchachos que vivieron con migo es esa casa.

A todos mis **PAISANOS** del estado de Jalisco; Chava, Moy, Pelón, Nacho (+), Fonta, Burro, Anis, Ojos, Gabriel, Luis Manzano, Raudales, Goyo, Chito, Felipe, More, Mariela, Nemorio, Cofra, Chuma, Ñito; y a todos aquellos que no mencione, pero que guardan un lugar especial en mis recuerdos. Quienes hicieron más grata mi estancia en esta universidad.

A esa persona la cual llego a mi vida a finales de mi carrera profesional y a sido fuente de apoyo y estabilidad emocional y con la cual he compartido momentos felices y amo profundamente. Gracias por todo **BETY**

A todos mis compañeros de la **Gen – 3 de la carrera de ICTA;** Ramiro, Francisco; Miguel A. Machuca, Gladis, Nemesio, Víctor (Celaya), Bey Enrique, Juan, Nancy, por mencionar4 a algunos. También a los chicos de la **Gen 4 de ICTA;** Manuel Tirado, Ana Lilia, Guadalupe, Carlos Hdz, Heberto, Esperanza del Ángel, entre otros. Con los cuales pase grandes momentos los cuales serán inolvidables y también les deseo la mejor de las suertes en sus vidas futuras.

A todos mis **PRIMOS,** en especial a Socorro, Enrique y Guadalupe de Anda; Luis López; Nena, Vero y Celia García; Adolfo, Alonso y Vanesa Peregrina y Fabián Soto. Gracias por compartir tantos bellos momentos a lo largo de nuestras vidas.

INDICE GENERAL

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTOS	ii
INDICE GENERAL	iv
INDICE DE FIGURAS	vi
INDICE DE CUADROS	vii
INTRODUCCION	viii
Objetivo	ix
1. ALIMENTOS FUNCIONALES	1
1.1. Introducción	1
1.2. Definición	2
1.3. Características	3
2. BACTERIAS ACIDO LACTICAS Y BIFIDOBACTERIAS	8
2.1. Introducción	8
2.2. Características	9
2.3. Clasificación	11
2.3.1. <i>Streptococcaceae</i>	11
2.3.1.1. <i>Streptococcus</i>	11
2.3.1.2. <i>Leuconostoc</i>	13
2.3.2. <i>Lactobacilleae</i>	14
2.3.1.1. <i>Thermobacterium</i>	14
2.3.1.2. <i>Streptobacterium</i>	15
2.3.1.3. <i>Betabacterium</i>	15
2.4. Bifidobacterias	16
2.4.1. Generalidades	16
3. MICROFLORA INTESTINAL	19
3.1. Composición y Distribución de Flora Humana	20
3.1.1. Distribución	20
3.1.2. Composición	20
3.2. Papel de la Flora Intestinal en el Ser Humano	22
4. PROBIOTICOS	25
4.1. Introducción	25

4.2. Definición	25
4.3. Composición	26
4.4. Criterios de Selección	27
4.5. Mecanismos de Acción	29
4.6. Aplicaciones	31
4.6.1. Disturbios Intestinales	31
a) Úlcera Péptica	31
b) Control de Enfermedades Diarreicas	32
4.6.2. Intolerancia a la Lactosa	35
4.6.3. Infección Tracto Urinaria	37
4.6.4. Efecto Inmuno Modulador	38
4.6.5. Actividad Antitumoral	41
4.6.6. Disminución de Colesterol	43
4.7. Obtención	45
4.7.1. Selección de la Cepa	45
4.7.2. Obtención de Probióticos	46
4.7.3. Métodos de Conservación.	46
4.7.3.1. Cultivos Iniciadores Líquidos.	47
4.7.3.2. Cultivos Deshidratados.	48
a) Deshidratados por Atomización.	48
b) Liofilización	49
c) Concentración por Liofilización.	49
4.7.3.3. Cultivos Congelados.	50
a) Congelados -40°C	50
b) Ultra Congelados.	50
4.7.4. Sistemas de Producción.	51
4.7.4.1. Sistemas Protegidos Mecánicamente.	51
a) Sistema Lewis.	51
b) Sistema Alfa-Laval.	54
c) Sistema Jones.	55
4.7.4.2. Método PRM/PIM	57
5. PREBIOTICOS	58
5.1. Introducción	58
5.2. Definición	59
5.3. Características	59
5.4. Criterios de Selección	60
5.5. Mecanismos de Acción	61
5.6. Aplicaciones	62
5.6.1. Modificación de la Microflora	62
5.6.2. Metabolismo de Lípidos	63
5.6.3. Cáncer de Colon	64
5.6.4. Absorción de Calcio	65
5.7. Obtención	66
5.7.1. Inulina	66
5.7.2. Oligofruktosa	67
5.7.3. Lactulosa	67
5.7.4. Galactooligosacaridos	68
6. CONCLUSIONES	69

INDICE DE FIGURAS

		pag
Figura 1.	Desarrollo de la Flora Fecal en Recién Nacidos	21
Figura 2.	Desarrollo de la Flora Fecal en Adultos	22
Figura 3.	Influencia de la Flora Intestinal sobre el Huésped	24
Figura 4.	Posibles Causas de la Úlcera Péptica	32
Figura 5.	Mecanismo de Obtención de Microorganismos Probióticos	46
Figura 6.	Esquema del Sistema Lewis	52
Figura 7.	Esquema del Tanque de Lewis Fabricado por Wincanton Engineering	53
Figura 8.	Sistema Alfa-Laval	55
Figura 9.	Esquema de un Tanque de Jones	57

INDICE DE CUADRTOS

pag

Cuadro 1.	Principales Componentes Funcionales	7
Cuadro 2.	Clasificación Según el Manual de Bergey	12
Cuadro 3.	Especies de Bifidobacterias y su Origen	17
Cuadro 4.	Microorganismos Utilizados como Probioticos en Humanos	27
Cuadro 5.	Composición Química y Características de Carbohidratos Candidatos a Prebióticos.	60

INTRODUCCION.

De un tiempo a la fecha se han puesto muy de moda los llamados “alimentos funcionales”. Son alimentos enriquecidos que no sólo aportan a

quienes los ingieren beneficios meramente nutricionales sino también otros que les permiten mejorar su salud. Pues bien tal es el caso de los alimentos probióticos y los alimentos prebióticos que, además de nutrir a quienes los consumen, colonizan el intestino modificando positivamente la flora intestinal y mejorando el funcionamiento del sistema inmune y, por lo tanto, la salud global del organismo.

El estrés, los malos hábitos alimentarios y el abuso de antibióticos son solo algunos de los factores que pueden afectar negativamente el necesario equilibrio de nuestra flora intestinal. Y en tales casos la ingesta de los llamados productos probióticos, - que contienen microorganismos vivos y activos una vez que colonizan el intestino -, prebióticos - que estimulan la acción bacteriana - o simbióticos - que asocian a ambos - es una buena alternativa, natural y sin efectos secundarios para mejorar sensiblemente el funcionamiento intestinal y, por extensión, optimizan nuestra salud.

En el caso de los alimentos “probióticos”, proporcionan beneficios a la salud por medio de la modificación de la microflora endógena en el tracto intestinal del huésped; estimulando el buen funcionamiento del sistema inmune, aliviando ciertos tipos de enfermedades infecciosas, tal es el caso de las diarreas, ayudando a prevenir el cáncer de colon, la hipercolesterolemia, la intolerancia a la lactosa y otras. Los microorganismos más representativos en estos alimentos son algunos géneros de bifidobacterias, lactobacilos, lactococos, estreptococos y algunas levaduras.

El término prebiótico fue introducido por Gibson y Roberfroid en 1995, y los definen como *“ingredientes alimenticios no digeribles que afectan benéficamente al huésped por estimular selectivamente el crecimiento y actividad de una o un grupo limitado de bacterias en el colon, mejorando así la salud del huésped”*. Los prebióticos traen beneficios al huésped por ayudar a prevenir enfermedades como hipercolesterolemia, cáncer de colon; así como mejorar la absorción de calcio, entre otras. Los oligosacáridos y la inulina son fuertes representantes de los ingredientes prebióticos.

OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo es reunir la suficiente evidencia escrita, relacionada con los alimentos prebióticos e ingredientes prebióticos, para demostrar sus habilidades de mejorar la salud del organismo que los consume no como un medicamento sino como un medio preventivo.

1. ALIMENTOS FUNCIONALES

1.1. INTRODUCCIÓN

Los alimentos tienen distintas funciones tales como satisfacer las necesidades del hambre, proveer calorías y nutrientes, ser integradores o desintegradores sociales, producir estímulos físico-químicos que contribuyen a la formación de hábitos y patrones alimentarios. Los alimentos también contribuyen a reducir el riesgo de enfermedades crónico-degenerativas y éste posible uso ha sido tema constante en los eventos de nutrición y alimentación (Franco, 2002).

Vasconcellos (2004), menciona que al iniciarse el nuevo milenio, una nueva era en el área de las ciencias de los alimentos y de la nutrición se ha hecho presente cada vez con mayor intensidad: El área de la interacción medico-alimentaria cada vez mas reconocida como la de los "alimentos funcionales" que acepta el papel de los componentes alimenticios, como nutrientes esenciales para el mantenimiento de la vida y de la salud y como compuestos no nutricionales pero que contribuyen a prevenir o retardar las enfermedades crónicas de la edad madura. Inicialmente considerados como una curiosidad pasajera, la área de la formulación de alimentos en base a los beneficios de salud que sus componentes no nutricionales podían proveer al consumidor, se ha convertido en una área de mucho interés actual para las grandes compañías de alimentos (Best, D., 1997; Hollingworth, P., 1997).

En estos momentos en que hay una creciente preocupación, y hasta obsesión, por la salud y la forma física así como por retrasar los signos de envejecimiento, uno de los grandes reclamos consiste en poner gran énfasis en las propiedades saludables de los alimentos, con finalidades preventivas, aunque a veces se hacen afirmaciones que "rozan" lo terapéutico, lo cual no debería ocurrir. En este marco ha surgido el concepto de alimentos funcionales o nutraceuticos (Mariné, 2001).

1.2. DEFINICIÓN.

El término alimento funcional fué propuesto por primera vez en Japón en la década de los 80's con la publicación de la reglamentación para los "Alimentos para uso específico de salud" ("foods for specified health use" o FOSHU) y que se refiere a aquellos alimentos procesados los cuales contienen ingredientes que desempeñan una actividad específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, más allá de su contenido nutricional (Alvídrez y col., 2002).

Actualmente no existe un acuerdo para definir en forma precisa lo que son los "alimentos funcionales". Muchos consideran que se trata de un concepto aún en desarrollo y que bien podría considerárseles como productos intermedios entre los tradicionales y la medicina. Los alimentos funcionales podrían definirse como: cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contienen sustancias adicionales que favorecen la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona (Vasconcellos, 2004).

Araya y Lutz (2003), mencionan que en la actualidad existen una gran variedad de definiciones del término alimentos funcionales, generadas por diferentes organismos, que conviene analizar para establecer un marco conceptual que permita estudiar los efectos del consumo de estos alimentos en el contexto de la actual situación epidemiológica de la población. El Consejo de Nutrición y Alimentación de la Academia de Ciencias de los Estados Unidos los define como «alimentos modificados o que contengan un ingrediente que demuestre una acción que incremente el bienestar del individuo o disminuya los riesgos de enfermedades, más allá de la función tradicional de los nutrientes que contiene». El Centro de Información Internacional de Alimentos (IFIC) los define como «aquellos productos a los cuales intencionalmente se les adiciona un compuesto específico para incrementar sus propiedades saludables» y define como alimentos saludables a aquellos que, en su estado

natural o con un mínimo de procesamiento, tienen compuestos con propiedades benéficas para la salud (www.ific.org).

No obstante, es posible adoptar una definición de trabajo que permita la comunicación y el establecimiento de ideas centrales acerca del tema. Por lo tanto, alimento funcional puede ser descrito como: "Alimento semejante en apariencia al alimento convencional, que se consume como parte de una alimentación normal y que es capaz de producir efectos metabólicos o fisiológicos comprobados, que propician una buena salud física y mental y/o la reducción de riesgos de enfermedades crónico-degenerativas, además de sus funciones nutricionales básicas" (Franco, 2002).

1.3. CARACTERÍSTICAS

Pattacini (2004) y Alcalde y col (2003) describen las características que debe de tener un alimento funcional (basadas en la legislación de Japón) las cuales son:

- El alimento debe ejercer un efecto positivo sobre la salud o sobre una función fisiológica.
- Los beneficios nutricionales y saludables de los alimentos o de los ingredientes específicos deben de fundamentarse sobre una base científica.
- La cantidad apropiada de ingesta diarias del alimento o del ingrediente debe ser establecida por expertos.
- El alimento, o el ingrediente, no debe resultar nocivo si se ingiere por encima de la ingesta recomendada.
- El ingrediente no debe reducir el valor nutritivo del alimento.
- El ingrediente debe estar caracterizado por:
 - a) Sus propiedades físicas y químicas, valoradas a través de métodos analíticos detallados.
 - b) Su presencia cualitativa y cuantitativa en el alimento.
- El alimento debe ser administrado como tal, de una manera convencional, nunca en forma de tabletas, cápsulas o polvos.
- El ingrediente debe ser un componente natural.

Según Vasconcellos (2004) y Schiappacase y col (2003) estos alimentos pueden clasificarse en tres categorías:

- I. Alimentos a base de ingredientes naturales.
- II. Alimentos que deben consumirse como parte de la dieta diaria.
- III. Alimentos que al consumirse cumplen un papel específico en las funciones del cuerpo humano permitiendo:
 - El mejoramiento de los mecanismos de defensa biológica.
 - Prevención o recuperación de alguna enfermedad específica.
 - Control de las condiciones físicas y mentales.
 - Retardo del proceso de envejecimiento

Entre los ingredientes favorecedores de la salud que se consideran en la composición de alimentos funcionales es posible citar: fibra alimentaria o dietética, oligosacáridos (fructooligosacáridos y otros) también llamados prebióticos, azúcares-alcohol (sorbitol, lactitol, maltitol), péptidos y proteínas, carotenoides, polifenoles, vitaminas, lecitinas y colina, minerales (calcio, magnesio, hierro, cinc, selenio), ácidos grasos poliinsaturados, bacterias ácido-lácticas (probióticos), algunos fitoestrógenos, glucosinolatos, ácido fólico y otros componentes de alimentos. En el caso de vitaminas o minerales se trata de cantidades o concentraciones especialmente significativas, que darían lugar a un consumo superior a las ingestas diarias recomendadas según el concepto "clásico" de nutriente (Marine,2001).

Actualmente existen muchos alimentos funcionales en el mundo. En el Cuadro 1 se presentan algunos ejemplos de componentes de alimentos funcionales. Siendo Estados Unidos uno de los países que tiene muy claro el objetivo de los alimentos funcionales para llegar a prevenir enfermedades en la población, por ejemplo, resulta fácil encontrar barras de cereales destinadas a mujeres de mediana edad, suplementadas con calcio para prevenir la osteoporosis, o por proteína de soya para reducir el riesgo de cáncer de mama y con ácido fólico, para un corazón más sano, panecillos energizantes y galletas adicionadas con proteínas, zinc y antioxidantes. En Europa se utilizan

rótulos que indican "Valor aumentado", así como en Alemania se comercializan golosinas adicionadas con vitamina Q₁₀ y vitamina E. En Italia las góndolas de los supermercados ofrecen yogurts con omega 3 y vitaminas y Francia ofrece azúcar adicionada con fructo-oligosacaridos para fomentar el desarrollo de la flora benéfica intestinal (Alvídrez y col, 2002).

En el presente trabajo trataremos lo referente a los probióticos, que son microorganismos vivos adicionados a un alimento, que en concentraciones óptimas, ejercen un efecto benéfico en la salud humana, ya sea por estimulación selectiva del crecimiento y/o actividad de una o un número limitado de bacterias en el colon. Las bífidobacterias y las bacterias ácido-lácticas son las más estudiadas y utilizadas como Probióticos (Pattacini,2004).

Estudios preliminares acerca de alimentos de alta disponibilidad por parte de la población, indican que basta con un consumo frecuente de ciertos productos para lograr el efecto protector; se destacan las frutas (cítricos, uvas y varias frutas tropicales), los vegetales (tomate, brócoli, cebolla, ajo, zanahoria y espinacas), leguminosas (soya y frijol común), el pescado y los cereales de grano entero. Sin embargo, esta función protectora se logra si se consume el alimento, no así si la persona recibe el componente en forma de suplemento, dado que la función podría atribuirse a varias sustancias que actúan de forma sinérgica. Por ejemplo, un estudio sobre la función antioxidante realizado con 23 frutas tropicales demostró que la guayaba y la guanábana tienen un alto poder antioxidante, atribuido al alto contenido de vitamina C y de flavonoides (Sedó, 2001).

Cuadro 1. Principales componentes funcionales

<i>Clase/Componente</i>	<i>Origen</i>	<i>Beneficio potencial</i>
<i>Carotenoides</i>		
<i>Beta caroteno</i>	Zanahoria	Neutraliza los radicales libres que podrían dañar a las células
<i>Luteína</i>	Vegetales verdes	Contribuye a una visión sana
<i>Licopeno</i>	Tomate	Podría reducir el riesgo de cáncer de próstata

<i>Fibras dietéticas</i>		
<i>Fibra insoluble</i>	Cáscara de trigo	Podría reducir el riesgo de cáncer de colon
<i>Beta glucano</i>	Avena	Reduce el riesgo de enfermedad cardiovascular
<i>Ácidos grasos</i>		
<i>Omega 3, ácido graso DHA</i>	Aceites de peces	Podrían reducir el riesgo de enf. cardiovascular y mejorar funciones mentales y visuales
<i>Ácido linoléico</i>	Queso, productos cárnicos	Podrían mejorar la composición corporal, podrían reducir el riesgo de ciertos tipos de cáncer
<i>Flavonoides</i>		
<i>Catequinas</i>	Te	Neutraliza radicales libres, podría reducir el riesgo de cáncer
<i>Flavonas</i>	Cítricos	Neutraliza radicales libres, podría reducir el riesgo de cáncer
<i>Esteroles vegetales</i>		
<i>Ester estanol</i>	Maíz, soya y trigo	Reduce los niveles de colesterol sanguíneo
<i>Prebióticos/Probióticos</i>		
<i>Fructooligosacáridos</i>	Achicoria, cebolla	Podría mejorar la salud gastrointestinal
<i>Lactobacilos</i>	Yogurt	Podría mejorar la salud gastrointestinal
<i>Fitoestrógenos</i>		
<i>Isoflavonas</i>	Alimentos con soya	Podrían reducir los síntomas de la menopausia

Sin embargo, se ha de tener en cuenta, y se ha de informar sobre ello, que los alimentos funcionales no curan enfermedades, más bien actúan como preventivos de algunas de ellas. Y que los componentes de estos alimentos enriquecidos se hallan en los alimentos convencionales, por lo que una dieta variada, equilibrada y moderada aporta beneficios similares a los de los alimentos funcionales (Alcalde y col,2003).

2. BACTERIAS ÁCIDO – LÁCTICAS Y BIFIDOBACTERIAS

2.1. INTRODUCCIÓN.

Las bacterias ácido lácticas (BAL) constituyen un grupo importante dentro de los microorganismos de la fermentación, ya que desde tiempos inmemoriales estos microorganismos se han utilizado en la fermentación de algunos alimentos de consumo humano, especialmente de aquellos que se producen con leche como ingrediente principal.

Las personas utilizan cultivos de BAL para diversificar la presentación o así como las diferentes características de sabor y textura a los alimentos originales como ejemplo es posible citar a las salchichas, vinos, sauerkraut, salsas fermentadas, productos lácteos, etc. (Danone Inc., 1995 a).

Recientemente algunos experimentos en animales han revelado que las BAL, estimulan la actividad inmunológica y ayudan a prevenir el cáncer. Por esto, los beneficios de las bacterias son ampliamente utilizados en productos farmacéuticos, alimentos para animales y también para consumo humano. En la industria de los alimentos son utilizadas en la producción de yogurt, bebidas fermentadas, quesos y mantequillas (Torres, 2002).

Aunque estas bacterias ácido lácticas han sido bien estudiadas y han disfrutado de una prolongada utilización en la industria de los alimentos, todavía se está asistiendo a grandes avances en

este campo, y se siguen descubriendo nuevas propiedades y usos, expandiendo así los horizontes para estas bacterias (Lee, 2000).

Sánchez (2002), basándose en otros autores, menciona que se han utilizado bacterias ácido lácticas desde hace mucho tiempo para procesos biológicos de productos lácteos y han sido consideradas como responsables de las actividades terapéuticas y profilácticas de estos alimentos, (Perdigón *et al*, 1995) . Es por esto que dichas bacterias se emplean en el desarrollo de nuevos alimentos para determinados consumidores (Lee B. H., 2000), teniendo gran importancia mundial en el desarrollo de formulas infantiles (Jelen,1983).

2.2. CARACTERÍSTICAS.

Torres (2002), define en términos generales a las BAL como aquellas bacterias que utilizan varios azúcares, como glucosa y lactosa, para producir ácido láctico mediante la fermentación de los mismos.

Las BAL están ampliamente distribuidas en la naturaleza, encontrándose principalmente en el suelo, plantas verdes, tracto gastrointestinal y en la vagina de humanos y animales y donde quiera que hay altas concentraciones de carbohidratos, vitaminas, proteínas desglosadas y baja concentración de oxígeno, además de leche y carnes (Danone Inc., 1994 b).

Las bacterias lácticas, también llamadas así, son organismos unicelulares (procariontes), como otras bacterias, éstas se reproducen por fisión binaria, es decir, forman replicas exactas de células hijas partiendo de células madre (excepto en raros casos de mutación). Se reproducen rápidamente, con un tiempo de duración de 30 – 90 min. en concentraciones óptimas (Danone Inc., 1995 a).

En la Danone Inc. (1995 a), se clasificó taxonómicamente a las bacterias ácido lácticas como, bacterias gram (+), anaerobias pero tolerantes, principalmente en forma de coco (esfera), bacilo (rodillo) u ovoide, pueden tolerar condiciones ácidas suaves, alrededor de un pH de 4, por varias semanas. Bourgeois y Larpent (1995) además de estas características añaden

que son catalasas negativas y generalmente aerotolerantes, aunque algunas pueden ser anaerobias estrictas como las del intestino del animal y del hombre. Mientras que Adams y Moos (1997) , explican de mejor manera las características de estos microorganismos diciendo que son: bacilos y cocos gram positivos asporógenos, la mayoría son aerotolerantes que carecen de citocromos y porfirinas y por esta razón son catalasa y oxidasa negativa y producen ácido láctico por dos vías las cuales son homofermentativa y heterofermentativa.

Alais (1970), describe de una manera más completa las propiedades de las bacterias lácticas de la siguiente manera:

- Bacterias esféricas o alargadas, inmóviles, no esporuladas, gram (+), catalasa (-). No poseen la citocromo – oxidasa.
- Anaerobias facultativas o microaerófilas (soportan tensiones reducidas de oxígeno), poco crecimiento en la superficie de los medios y crecimiento más fácil en profundidad.
- No reducen nitratos.
- Muy exigentes en nutrición nitrogenada y vitamínica; así, el medio debe aportar una mezcla compleja de aminoácidos y factores de crecimiento, especialmente de vitamina B. No existe crecimiento con sales de amonio como única fuente de nitrógeno.
- La actividad proteolítica en la leche es, en general, débil y no se manifiesta más que lentamente.
- Los disacáridos (lactosa, sacarosa y maltosa) son corrientemente mejores alimentos que las hexosas de las que están formados (fructosa, glucosa y galactosa).
- El ácido láctico producido en el curso de la fermentación no es del mismo tipo para las diferentes especies; algunas dan ácido dextrógiro, otras dan ácido levógiro y otras, dan ácido racémico inactivo.
- Las hexosas se transforman en ácido láctico, en una proporción igual o superior al 90%, por acción de bacterias lácticas “homofermentativas” y al 50% para las denominadas “heterofermentativas”; éstas últimas

forman además gas carbónico (alrededor del 25% del azúcar) o productos neutros (alcohol y glicerol) y ácidos (acético).

Dentro de las bacterias ácido lácticas tenemos a las homofermentativas y las heterofermentativas. Las primeras producen, prácticamente, lactato como único producto de la fermentación de la glucosa. Siguen la vía glucolítica de Embden – Meyerhof – Parnas (EMP). Mientras que las bacterias heterofermentativas producen, aproximadamente, un 50% de lactato (ácido láctico); además de etanol, acetato y dióxido de carbono a partir de glucosa. Estas bacterias carecen de aldosa y transforman la hexosa glucosa en la pentosa ribosa por medio de una secuencia en la que intervienen la oxidación y descarboxilación (Adams y Moos, 1997).

2.3. CLASIFICACIÓN.

Las bacterias lácticas se encuentran dentro de la familia de las *Lactobacteriaceae*. Este grupo está constituido por los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, éstos son los de mayor importancia en la industria láctica; además de los géneros *Micobacterium*, *Eubacterium* y *Butyribacterium* (Bourgeois y Larpent, 1995).

Según Robinsón (1987) en la clasificación de las BAL el método más utilizado universalmente es, todavía, el descrito por Orla – Jensen (1931). La séptima edición del *Manual de Bacteriología Determinante de Bergey* (Breed et. Al, 1957) recogía a las LAB en una familia de *Lactobacillaceae*, subdividida en dos tribus: I *Streptococcaceae* y II *Lactobacilleae*; (cuadro 2).

2.3.1. *Streptococcaceae*

2.3.1.1. *Streptococcus*.

- a) Grupo Láctico.- Se trata de bacterias lácticas mesófilas homofermentativas pertenecientes al grupo serológico N. Son los estreptococos que producen más ácido en la leche tornasolada (0.8% a 1% de ácido láctico) (Alais, 1970). Frazier (1969), menciona que este grupo comprende las importantes bacterias de la leche *Str. lactis* y *Str.*

Cuadro 2. Clasificación de la familia *Lactobacteriaceae* según el Manual de

Bergey

cremoris que crecen a 10 °C pero no a 45 °C. Estas bacterias se emplean como fermentos para queso, mantequilla fermentada y ciertos tipos de mantequilla. Mientras que Bourgeois y Larpent (1995) consideran también dentro de este grupo a *Str. diacetylactis* llamándolo heterofermentativo porque produce gas en presencia de citrato (Bridge y Sneath, 1983; Killper Balz Et al, 1982; Priest y Barbour, 1985).

- b) Grupo Termófilo o Viridians.- Incluyen a el *Str. thermophilus* importante en los quesos que se elaboran cocinando a altas temperaturas las cuajadas y en ciertas leches fermentadas como el yogurt y el *Str. bovis* que se encuentra en el estiércol vacuno. Estas especies son termodúricas por lo que crecen a 45 °C pero no a 10 °C. (Frazier, 1969). Alais (1970), menciona que en la saliva se ha encontrado una especie termófila menos conocida, el *Str. salivarius* que no crece a 50 °C.
- c) Grupo Piógenes.- Son productores de pus, comprenden especies patógenas entre las que están el *Str. agalactiae* que ocasiona mastitis en vacas, el *Str. pyogenes* que origina en el hombre faringitis séptica, escarlatina y otras enfermedades. Los estreptococos piógenos no crecen ni a 10 ni 40 °C (Frazier, 1969).
- d) Grupo de Enterococcus.- Lo constituyen *Str. faecalis*, *Str. durans*, *Str. faecalis* var. *liquefaciens* es una variedad ácido – proteolítica y *Str. faecalis* var. *zymogenes*, es una variedad hemolítica. Las bacterias de este grupo crecen tanto a 10 °C como a 45 °C. Los enterococos provienen del tracto intestinal de hombres y animales, se consideran como indicadores de contaminación y algunas veces como patógenos (Frazier, 1969).

2.3.1.2. Leuconostoc.

Se han identificado bien dos especies, pero no se conocen sus reacciones serológicas (Alais, 1970).

- *Leuconostoc citrovorum* o *Lc. cremoris*, éste no coagula la leche, crece a temperaturas medias, 20 – 30 °C y no es termorresistente.
- *Lc kefir* o *Lc lactis*, resiste temperaturas a 63 °C durante 30 min, se ha encontrado en leches pasteurizadas.

Son heterofermentativos (vía hexosa monofosfato) forman ácido láctico levógiro, CO₂ y etanol, células en pares o cadenitas, catalasa (-) (Bourgeois y Larpent, 1995).

2.3.2. Lactobacilleae.

Bourgeois y Larpent (1995), citan que aunque la nomenclatura está oficialmente reconocida, resulta muy práctica la división del género *Lactobacillus* (Lb) en tres subgéneros: *thermobacterium*, *streptobacterium* y *betabacterium* (Dolczil y Kirsop, 1977; Larpent – Gourgaud, 1985; Rose, 1982).

2.3.2.1. *Thermobacterium*

Alais (1970), menciona que este grupo se subdivide en ocho especies, con cinco especies de especial interés. Todas estas especies se desarrollan bien a 45°C, pero no a 15°C, el crecimiento es lento por debajo de los 35°C. Solamente existen dos especies que pueden considerarse como termorresistentes, las cuales son *Lb. lactis* y *Lb. helveticus*.

Dentro de este grupo se encuentran especies como *Lb. jugurti* que es de las bacterias lácticas que produce mayor cantidad de ácido en leche, *Lb. bulgaricus*, *Lb. lactis* y *Lb. acidophilus* esta última especie es la única que puede implantarse en la flora intestinal de niños alimentados con biberón; también se encuentra con frecuencia en las heces del hombre adulto y de los mamíferos.

2.3.2.2. *Streptobacterium.*

Estos lactobacilos se cultivan bien alrededor de los 35°C, pero por encima de los 40°C ya no se desarrollan. Son menos acidificantes que los anteriores, aunque fermentan una gran variedad de glucidos. Las dos especies más representativas son *Lb. casei*; que entre los mesófilos es probablemente el que tenga mayor actividad en quesería, posee diversos sistemas enzimáticos: proteinasas, pepsidasas, desaminasas y lipasas. *Lb. plantarum*; este género no tiene la morfología característica del anterior, se encuentra en la leche y es menos frecuente en quesos. Su “habitat” normal se halla probablemente en las materias vegetales, a las que fermenta o deteriora (Alais, 1970).

2.3.2.3. Betabacterium.

Son microorganismos heterofermentativos y son menos importantes que los homofermentativos desde el punto de vista láctico. Estos lactobacilos son aportados a la leche por el cuajo o por sustitutos vegetales. El *Lb. fermenti* es termófilo, forma parte de la microflora de los cuajos naturales y en abundancia es responsable de la “apertura” excesiva de quesos de pasta cocida. *Lb. brevis*, es mesófilo y no se desarrolla por encima de los 38°C puede provocar el hinchamiento de los quesos holandeses (Alais, 1970).

Aunque estas bacterias ácido lácticas han sido bien estudiadas y han disfrutado de una prolongada utilización en la industria de los alimentos, todavía estamos asistiendo a grandes avances en este campo, y se siguen descubriendo nuevas propiedades y usos, expandiéndose así los horizontes para estas bacterias (Lee, 2000).

2.4. BIFIDOBACTERIAS

2.4.1. Generalidades

Las bifidobacterias son un habitante normal del tracto gastrointestinal del humano a lo largo de la vida, comenzando días después de nacer. Estas son unas de las varias especies predominantes de la flora colonica, por lo cual están presentes en niveles de $10^6 - 10^{11}$ bacterias/gr de materia fecal (Danone Inc., 1994 a).

Sarra y cols (1992), mencionan que las bifidobacterias fueron descritas por primera vez en 1900 por Tisser, el cual las nombro como *Bacillus bifidus*. Su nombre proviene de la observación de éstas como varitas o rodillos que algunas veces tienen forma de "Y" o forma "bifida" (Simons, 1988). Son bacilos gram (+), anaeróbios estrictos no esporulados que presentan características pleomórficas muy específicas en función de su edad y de las condiciones de cultivo (Gonzáles y Azaola, 1997).

Las bifidobacterias constituyen un grupo de microorganismos con características muy particulares, a diferencia de los lactobacilos y otras bacterias lácticas, ya que la vía de degradación de la glucosa es a través de una ruta alternativa donde la enzima clave es la fructosa-6- fosfato - fosfocetolasa (F6PPK). En esta vía los principales productos de fermentación son el acetato y lactato en una reacción de 3:2 para 2 moles de glucosa y es muy característica para este grupo de microorganismos por lo que la detección de esta enzima se utiliza para identificar a las bifidobacterias a nivel genético (González y Azaola, 1997).

Sarra y cols (1992) mencionan que Reuter (1963/64) propuso que en base con la fermentación de carbohidratos y características serológicas 7 especies de bifidobacterias en adición a la ya conocida, *B. bifidus*, cepa aislada de humanos infantiles y adultos. El mejor esquema de clasificación fue presentado por Mitsuoca (1969b); 483 cepas de bifidobacterias aisladas de humanos y algunas especies de animales, fueron estudiadas y clasificadas en base en sus características fisiológicas y bioquímicas y los resultados fueron comparados con los resultados obtenidos por Reuter. En el mismo año Scardovi (1969) aisló *B. ruminale* y *B globosum* del rumen del ganado vacuno.

Además, Scardovi y Trovatelli (1969) hallaron tres nuevas especies; *B. asteroides*, *B. indicum* y *B. coryneforme* en el intestino de abejas y/o avispas.

Actualmente se han identificado 31 especies de bifidobacterias, de las cuales 12 son de origen humano, tal y como se muestra en el siguiente cuadro (González y Azaola, 1997).

Cuadro 3. Especies de bifidobacterias y su origen

ESPECIE	ORIGEN	ESPECIE	ORIGEN
<i>B. adolescentis</i>	Intestino del adulto*	<i>B. indicum</i>	Abeja
<i>B. angulatum</i>	Heces de humano adulto*	<i>B. infantis</i>	Heces de humano infante*
<i>B. animalis</i>	Heces de rata	<i>B. inopinatum</i>	Caries dental humana*
<i>B. asteroides</i>	Abeja	<i>B. longum</i>	Heces de humano adulto*
<i>B. bifidum</i>	Heces de humano infante*	<i>B. magnum</i>	Heces de conejo
<i>B. boum</i>	Rumen de bovino	<i>B. merycicum</i>	Rumen de bovino
<i>B. breve</i>	Heces de humano infante*	<i>B. minimum</i>	Aguas negras
<i>B. catenolatum</i>	Heces de humano adulto*	<i>B. pseudocatenulatum</i>	Heces de humano infante*
<i>B. choerinum</i>	Heces de cerdo	<i>B. pseudolongum</i>	Heces de cerdo
<i>B. coryneforme</i>	Abeja	<i>B. pullorum</i>	Heces de pollo
<i>B. cuniculi</i>	Heces de conejo	<i>B. ruminantium</i>	Rumen de bovinos
<i>B. denticolens</i>	Caries dental humana*	<i>B. saeculare</i>	Heces de conejo
<i>B. dentium</i>	Caries dental humana*	<i>B. subtile</i>	Aguas negras
<i>B. gallicum</i>	Heces de humanos*	<i>B. suis</i>	Heces de cerdo

B. gallinarum Cecum de pollo

B. thermophilum Heces de lechón

B. globosum Rumen de bovino

* Procedencia Humana

Se cree que las bifidobacterias ayudan a mantener el equilibrio intestinal normal, al tiempo que mejoran la tolerancia a la lactosa; que poseen actividad antitumorigénica; y que reducen los niveles de colesterol sérico. Además, algunos son de la opinión de que promueven la absorción de calcio y la síntesis de vitaminas del complejo "B". También se ha sugerido que las bifidobacterias reducen o previenen la excreción de rotavirus, causa de diarrea entre niños (Prescott y cols, 2000).

3. MICROFLORA INTESTINAL

Dentro del estudio sobre el tracto gastrointestinal, se le ha dado una importancia mínima al papel que juega la flora intestinal microbiana autóctona. Sin duda la falta de interés se debe al poco conocimiento que se tiene acerca de su interacción con el huésped (Torres, 1996).

La microflora del tracto gastrointestinal humano juega un papel significativo en la salud del huésped. La microflora intestinal se caracteriza por la gran diversidad de poblaciones, con arriba de 400 especies diferentes y por la compleja interacción de éstas (Danone Inc., 1997 b). Torres (2002), menciona que las investigaciones han demostrado que el tracto gastrointestinal

humano está poblado de aproximadamente 100 trillones de bacterias con cerca de 15 diferentes familias o grupos de géneros.

Es difícil dar una visión precisa de la composición de la microbiota intestinal "normal". Por una parte existen variaciones cualitativas y cuantitativas de una persona a otra, ligadas al propio individuo, a su raza o a su alimentación y por otra, se desconoce gran parte de la microbiota del tracto intestinal superior a causa de su inaccesibilidad. Por ello, las muestras más estudiadas son las heces, pero son un reflejo imperfecto de lo que ocurre realmente a nivel del ecosistema microbiano digestivo, en ellas es difícil distinguir entre microorganismos nativos y colonizadores transitorios, ingeridos en alimentos o arrastrados de hábitats próximos (Barbés, 2001).

Mitsuoka (1990) clasificó a los microorganismos de la flora en los siguientes 3 grupos: 1) El grupo de las bacterias ácido lácticas que incluía bifidobacterias, lactobacilos, estreptococos y algunos enterococos; 2) El grupo de bacterias anaeróbicas, que incluye *bacteroidaceae*, bacilos curvos anaerobios, *Eubacterium*, *Peptococcaceae*, *Veillonela*, *Megasporea*, *Gemmiger*, *Clostridium* y *Treponema*; 3) El grupo de bacterias aerobias que incluyen *Enterobacteriaceas*, *Staphilococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas* y levaduras.

3.1. COMPOSICIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE LA FLORA EN EL HUMANO

3.1.1. DISTRIBUCIÓN

Según datos reportados por Danone Inc. (1997b), el 99% de las bacterias del tracto son anaeróbicas, y se distribuyen de la siguiente manera: El estómago contiene muy pocas bacterias residentes es menor a 10^3 UFC/ml debido al pH que es de alrededor de 2. El intestino delgado superior contiene relativamente pocos microorganismos, con arriba de 10^5 UFC/ml, debido al movimiento peristáltico. En el intestino delgado bajo, el número de bacterias gram (+) y (-) estrictamente anaerobias aumenta. En el íleon distal, las bacterias gram (-) estrictamente anaerobias son predominantes y conforme

pasan al colon, el número y variedad de bacterias anaeróbicas estrictas se incrementa dramáticamente. El colon es un entorno con arriba de 10^{11} células viables por gramo de heces frescas

3.1.2.COMPOSICIÓN

Torres (2002) y Esquivel (2004) mencionan que el cuerpo humano se va poblando de bacterias y levaduras desde el momento mismo del nacimiento, al pasar por el canal vaginal materno y cuando el bebé entra en contacto con el medio ambiente y la leche materna principalmente. En la figura 1 se resume el desarrollo de la microflora en recién nacidos; sobresale que durante los dos primeros días predominan *Escherichia coli*, *Streptococcus* y *Clostridium*; En el tercer día los *Bacteroides*, *Bifidobacterium* y *Clostridium* se presentan en un 40%

de infantes; entre el cuarto y séptimo día las bifidobacterias se vuelven predominantes con cifras de 10^{10} a 10^{11} microorganismos por gramo de materia fecal y *Clostridium*, *Bacteroides*, *Enterobacterias*, *Streptococcus* y *Staphylococcus* disminuyen.

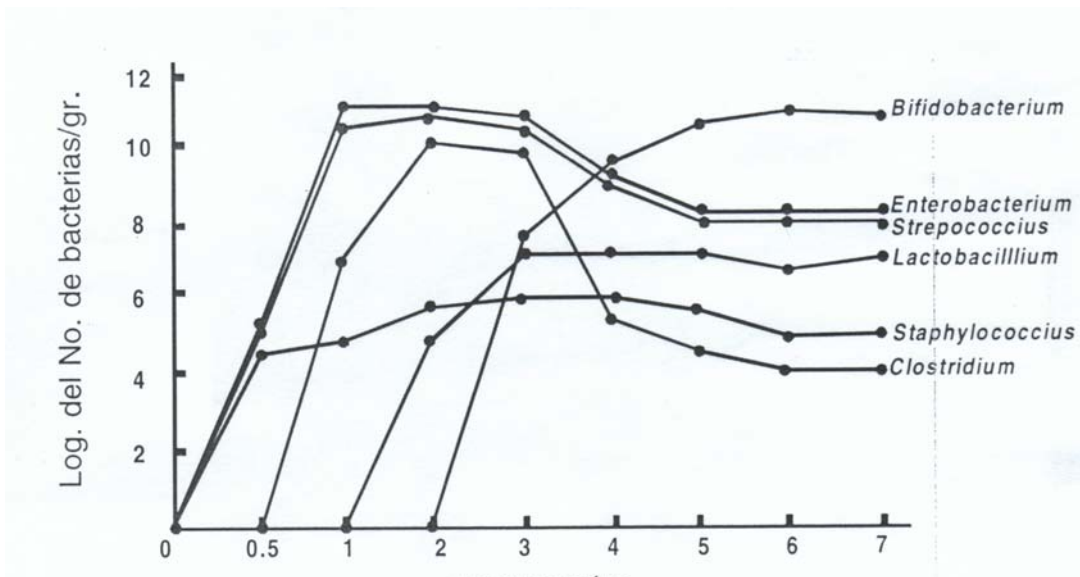


Figura 1. Desarrollo de la flora fecal en recién nacidos.

En los adultos el grupo que predomina más son las *Bacteroidaceae* con un contenido de $10^{10.9}$ por gramo de heces, el segundo grupo son las *Eubacterium* con un contenido medio de $10^{10.4}$ por gramo de heces, el tercer grupo es el de las *Peptococcaceae* que incluye a *Ruminococcus*, *Coprococcus* y *Peptostreptococci* con un contenido medio de $10^{10.2}$ por gramo de materia fecal; el cuarto grupo lo comprenden las *Bifidobacterium* con un contenido de 10^{10} por gramo de heces y constituyen del 5 al 10% de la flora total. Las cuentas de enterobacterias incluyendo *E. Coli* y estreptococos disminuyen a 10^8 por gramo de excremento. Los *Lactobacillus*, *Megasphaera* y *Veillonellae* también se han encontrado en los excrementos de adultos pero las cuentas son generalmente menores a 10^7 por gramo de materia fecal. Todo esto se resume en la figura 2 (Mitsuoka, 1990; 1992 y Torres, 2002).

Figura 2. Desarrollo de la flora fecal en adultos.

3.2. PAPEL DE LA FLORA INTESTINAL EN LA SALUD HUMANA

Hay dos tipos de flora intestinal: la flora residente o autóctona y la pasajera o transitoria. La primera se adhiere a las células epiteliales de la mucosa, son microorganismos fijos que se

multiplican con rapidez que están bien adaptados y son estables e inoocuos. La flora pasajera no se adhiere al epitelio ni se establece en el intestino y está formada por los microorganismos no patógenos procedentes de la porción superior del intestino, los alimentos y el medio ambiente. (www.monografias.com, 2004).

Dentro del intestino, las bacterias participan en la conversión de varias sustancias que producen efectos benéficos y dañinos para el huésped. Las bacterias de la flora intestinal protegen el tracto de la proliferación o infección de bacterias dañinas, mientras que las bacterias dañinas manifiestan patogenicidad cuando las resistencias del huésped disminuyen (Torres,1996).

Un huésped y su flora nativa normalmente se hallan en estado de equilibrio dinámico. El huésped proporciona condiciones de vida favorables para sus poblaciones microbianas y no reacciona con demasiada violencia ante ellos, los microorganismos tampoco causan trastornos en el huésped y, de hecho, pueden beneficiarlo. Al mismo tiempo los diversos grupos de microorganismos actúan unos contra otros, estimulándose o inhibiéndose mutuamente (Carpenter,1979).

En www.monografias.com (2004) menciona algunos de los efectos de la flora intestinal sobre el huésped, los cuales son:

- La modificación cualitativa del intestino.
- Su papel sobre la degradación de los nutrientes.
- La síntesis de vitaminas.
- La producción de ácidos grasos volátiles y la reabsorción de metabolitos bacterianos.
- Síntesis de aminos activas y poliaminas.
- El papel sobre los productos de secreción endógena.
- La producción de gases.
- La acción sobre el metabolismo de los xenobioticos.

Los resultados de los estudios realizados hasta ahora acerca de sus funciones fisiológicas señalan que intervienen en los procesos digestivos, en la síntesis de vitaminas, en la regulación del sistema inmune, en el mantenimiento

de la funcionalidad e integridad de la mucosa y en la estimulación de la movilidad intestinal (figura 3). Sin embargo tales funciones se ven afectadas por desequilibrios de la microflora, causados por factores como la dieta, aspectos psicológicos (estrés), eficacia en el metabolismo de drogas, carcinogénesis, envejecimiento, respuesta inmunológica, resistencia a las infecciones por endotoxinas, clima y proliferación de gérmenes patógenos por consumo de alimentos manejados con poca higiene, entre otros (Esquivel, 2004).

Figura 3. Influencia de la flora intestinal sobre el huésped.

Torres (2002), menciona que los factores que afectan a la microflora intestinal se incluyen los siguientes aspectos:

- Factores del huésped: pH, secreción de inmunoglobulinas, bilis, sales, enzimas; movilidad por ejemplo: Peristaltismo, mucinas y exudados.
- Factores microbianos: Adhesión, movilidad, flexibilidad nutricional, cápsulas, enzimas, componentes antimicrobianos y tiempo de generación.

- Interacciones microbianas: Cooperación metabólica, factores de crecimiento y excreción de vitaminas, alteraciones por potencial de óxido reducción, pH y tensión de oxígeno.
- Antagonismo: Alteraciones por potencial de óxido reducción, pH, tensión de oxígeno, componentes antimicrobianos, requerimientos nutricionales, etc.
- Dieta: Composición, fibras no digeribles, drogas, etc.

4. PROBIÓTICOS

4.1. INTRODUCCIÓN.

Sánchez (2002), menciona que el uso de bacterias como probióticos se inició en 1885 cuando Cantani utilizó *Termobacterium* en el tratamiento de la tuberculosis. Aunque 800 años a de C., los egipcios ya consumían yogurt y conocían sus propiedades probióticas (Gaona, 1998).

Mientras que Reboloso (2000), menciona que los efectos benéficos de las bacterias de la flora intestinal se inicia a principios del siglo pasado con los trabajos de Metchnikoff, desde entonces y a lo largo de casi 100 años de estudios de diversos autores se han esforzado por conocer las distintas funciones de los microorganismos que habitan el tracto digestivo.

Las investigaciones para el desarrollo específico de bacterias probióticas (BP) se inicio en Japón en la década de los treinta del siglo XX, lográndose aislar y reforzar la primera cepa probiótica en el mundo, llamada *Lb casei* cepa *Shirota*, dando origen, con esto, a la primera leche fermentada con características probióticas, tal y como lo constata el Dr. Michael Heasman en su libro "The funtional revolution" (Esquivel, 2004).

4.2. DEFINICIÓN.

La palabra probiótico significa "para la vida" o "a favor de la vida" y deriva del griego y a través del tiempo ha tenido una gran diversidad de definiciones.

Algunas de las definiciones existentes sobre probióticos son las siguientes:

♣ El término probiótico fue usado por primera vez en el año de 1965 por Lilly y Stillwel, para describir a aquellas sustancias secretadas por un microorganismo protozoario la cual estimula el crecimiento de otros microorganismos, en contraposición al término antibiótico (Reboloso,1998;2000).

♣ Fox, define a los probióticos como preparaciones microbianas y/o levaduras cuya mayoría produce ácido láctico y pueden ser administradas oralmente o agregados al alimento (Sánchez,2002)

♣ Mientras que Fuller, redefine a los probióticos como microorganismos vivos adicionados como aditivo alimenticio. El alimento tiene efectos benéficos para el hospedero al mejorar el balance de la flora intestinal natural (Franco, 1997).

♣ Schaafsma (1996) define a los probióticos como "organismos vivos que tras su ingestión en cierto número, ejercen efectos benéficos mas allá que los inherentes a la nutrición básica".

♣ Havenaar y Huis in't Veald (1992) definen a los probióticos como: cultivos mixtos o simples de microorganismos vivos, los cuales al ser aplicados a hombres o animales, tienen un efecto benéfico para el huésped mejorando las propiedades de la microflora nativa. Siendo ésta la que en la actualidad se

maneja con mayor frecuencia por ser la que más se apega a lo que en realidad es un microorganismo probiótico.

4.3. COMPOSICIÓN

Sánchez (2002), menciona que aunque es numeroso el género de bacterias (y levaduras) que se están comercializando como cultivos probióticos a lo largo del mundo, la mayoría normalmente se encuentra en los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*; teniendo además un mercado significativo en Asia, principalmente en Japón y han logrado importancia en Europa en la última década, mientras que en Estados Unidos es todavía bajo su comercialización (O'Sullivan, 2001).

Los probióticos pueden ser presentados en diferentes formas. El tipo de presentación dependerá del empleo que se requiera. Pueden ser incluidos en alimentos o como productos en forma de cápsulas, pastas, polvos o gránulos que puedan ser dosificados directamente o a través de los alimentos. Además de que los probióticos como producto para consumo humano caen en tres categorías: alimentos infantiles, leches fermentadas y preparaciones farmacéuticas utilizando uno o más de los microorganismos mencionados en el Cuadro 4 (Reboloso, 2000).

En el Cuadro 4 se incluyen los microorganismos con características probióticas identificadas a la fecha (Torres,2002 y Esquivel 2004).

Cuadro 4. Microorganismos usados como probióticos en humanos

Bifidobacterium bifidus	Lactobacillus acidophilus
Bif. Infantis	Lb. Plantarum
Bif. Adolescentis	Lb. Casei
Bif. Longum	Lb. Casei spp. Rhamosus
Bif. Breve	Lb delbrueckii spp. Bulgaricus
Str. salivarium spp. thermophilus	Lb. Fermentum
Enterococcus faecalis	Lb. Reuteri
Enterococcus faecium	Saccharomyces boulardii
Lactococcus lactis spp. Cremoris	Lactococcus lactis spp. Lactis

4.4. CRITERIOS DE SELECCIÓN.

Salminen (2000), menciona que la seguridad de las bacterias ácido lácticas usadas en medicina y principalmente en alimentos es de gran importancia. En general, las bacterias ácido lácticas tiene un buen reconocimiento como seguras y no tienen mayores problemas. Una revisión actual dio el reconocimiento en seguridad a bacterias probióticas, esto fue publicado por un grupo de expertos europeos (Salminen et al, 1998; Marteau y Salminen, 1998). Esto es muy importante para el futuro de las bacterias ácido lácticas probióticas ya que han sido aprobadas como seguras y lo confirman todas las regulaciones.

Para la utilización de *Lactobacillus* como probiótico es necesario que las cepas sean capaces de adherirse a las células intestinales ya que constituyen un prerrequisito para la colonización. Dichas cepas deben soportar las barreras potenciales tales como el bajo pH del estomago, la baja tensión superficial, la presencia de ácidos biliares y la interacción con otros microorganismos presentes también en el tracto gastrointestinal. Otras cualidades importantes de estas cepas deben ser la producción de sustancias antimicrobianas y la resistencia a antibióticos (Torres, 2000).

En los primeros estudios las cepas utilizadas para fermentar productos de la leche para el consumo humano poseían cualidades como probióticos. Después se llegó a la conclusión que eran más apropiadas las bacterias cuyo origen era el tracto gastrointestinal humano y que adicionalmente a las bacterias del ácido láctico se podían utilizar otros microorganismos ya sean solos o combinados. En la actualidad existen o se utilizan criterios de selección muy estrictos para obtener cepas funcionales de probióticos. Se ha generalizado que las cepas deben de ser de origen del huésped, muy bien caracterizadas, capaces de sobrevivir a los rigores del tracto digestivo y a una posible colonización, biológicamente activas y de fácil distribución comercial (Torres, 2002).

Ballabriaga (1999), describe las características que debe de reunir un microorganismo para que se considere como probiótico, los cuales son:

1. La cepa para su uso en humanos debe ser preferentemente de origen humano, y haber sido aislada de un individuo que goce de buena salud.
2. Las cepas utilizadas como probióticos deben de tener una historia de no ser patógenas.
3. No ser sensibles a las enzimas proteolíticas.
4. Ser capaces de sobrevivir en el tracto gastrointestinal.
5. Deben ser estables frente a ácidos y bilis y no conjugarse con sales biliares.
6. Tener capacidad para adherirse a las superficies epiteliales.
7. Sobrevivir en el ecosistema intestinal.
8. Ser capaces de producir componentes antimicrobianos.
9. Deben de permanecer vivas y estables durante su empleo.
10. Deben de tener un mecanismo específico de adhesión al intestino humano.
11. Deben ser capaces de crecer rápidamente en las condiciones del ciego.
12. Deben ser capaces de activar la inmunoestimulación pero sin efecto proinflamatorio.

Los suplementos probióticos no son regulados por FDA porque están clasificados como productos nutricionales más que productos farmacéuticos. Los médicos quienes recomiendan su uso deben estar atentos a qué cepas específicas de organismos contienen cada preparación probiótica, recordando que un *Lactobacillus* no es necesariamente el mismo que otro. Los consumidores también deben considerar en que forma la preparación es vendida y que medidas deben ser tomadas en el almacenaje para asegurar que los organismos se mantengan viables al momento de su consumo (Maguiña y Barrionuevo,2002).

4.5. MECANISMOS DE ACCIÓN DE BACTERIAS PROBIÓTICAS.

Muchos autores reportan los mecanismos de acción de las bacterias probióticas, teniendo cierta similitud entre ellos; en el presente trabajo se tomarán en cuenta los propuestos por Torres (2000 y 2002).

Esencialmente hay tres mecanismos de acción propuestos para el modo de acción de las bacterias probióticas; los cuales se resumen de la manera siguiente:

❖ Antimicrobianos: Se refieren a las acciones de las preparaciones de probióticos sobre otros grupos específicos de microorganismo. Estos se aplican directamente al uso de probióticos para mejorar la resistencia contra patógenos intestinales y en la prevención de diarreas. Estos incluyen:

- 1.- Producción de sustancias antimicrobianas
- 2.- Competencia por receptores y/o sitios de adhesión
- 3.- Competencia por nutrientes.
- 4.- Estimulación inmunológica.

❖ Bioquímicos:

1.- Reducción de enzimas fecales que pueden convertir co-carcinógenos a carcinógenos. La ingestión de lactobacilos ha dado como resultado la reducción de enzimas fecales como la beta-glucoronidasa, azo-reductasa y nitro-reductasa en los humanos, las cuales convierten las sustancias co-carcinógenas a carcinógenas.

2.- Disminuye la intolerancia a la lactosa. Al tomar microorganismos probióticos que contienen y producen beta-galactosidasa, se obtiene la degradación del azúcar antes de que llegue a los microorganismos nativos en la parte inferior del intestino delgado.

3.- Reducen el colesterol sérico. Se ha reportado que probióticos como los lactobacilos pueden asimilar el colesterol y desconjugar los ácidos biliares y que esto lleva a la reducción de los niveles del colesterol sérico. Actualmente estas evidencias se basan en investigaciones de laboratorio en la asimilación del colesterol y estudios *in vivo* de esas acciones.

❖ Fisiológicos: Se refiere a la influencia de estos microorganismos en la respuesta del huésped e incluye los siguientes puntos:

1.- Estimulación del sistema inmunológico.

2.- Reducción del riesgo de cáncer de colon mediante la supresión de tumores.

Existen evidencias de que los componentes celulares de los lactobacilos estimulan directamente la respuesta inmunológica. Esto tiene repercusiones tanto para proteger al huésped de infecciones así como de cáncer de colon. En algunos casos se han notado efectos coadyuvantes y esto representa un mejoramiento general del estado inmunológico del huésped como resultado de una dosificación de un probiótico.

4.6. APLICACIONES.

Lee (2000), menciona que se han registrado ciertos beneficios para la salud, por parte de estos microorganismos probióticos, entre ellos están la reducción a la intolerancia a la lactosa, la estimulación de la respuesta inmune inespecífica, el alivio a los síntomas de la diarrea, la prevención de los tumores inducidos por sustancias químicas (Perdigon et al, 1995), y la prevención del cáncer y la reducción de colesterol (Mi tal y garg, 1995).

4.6.1. Disturbios Intestinales

a) Úlcera Péptica:

Se estima que *Helicobacter pylori* es la causa de úlcera péptica en casi el 70% de los adultos humanos y el otro 30% de úlceras gástricas se presenta sin *H. pylori*, en los E. U. A. Las posibles causas de que se presente este problema se ilustran en la figura 4. La combinación de las bacterias lácticas probióticas y las proteínas de la leche se consideran una mancuerna muy efectiva para eliminar *H. pylori* (Torres, 2002).

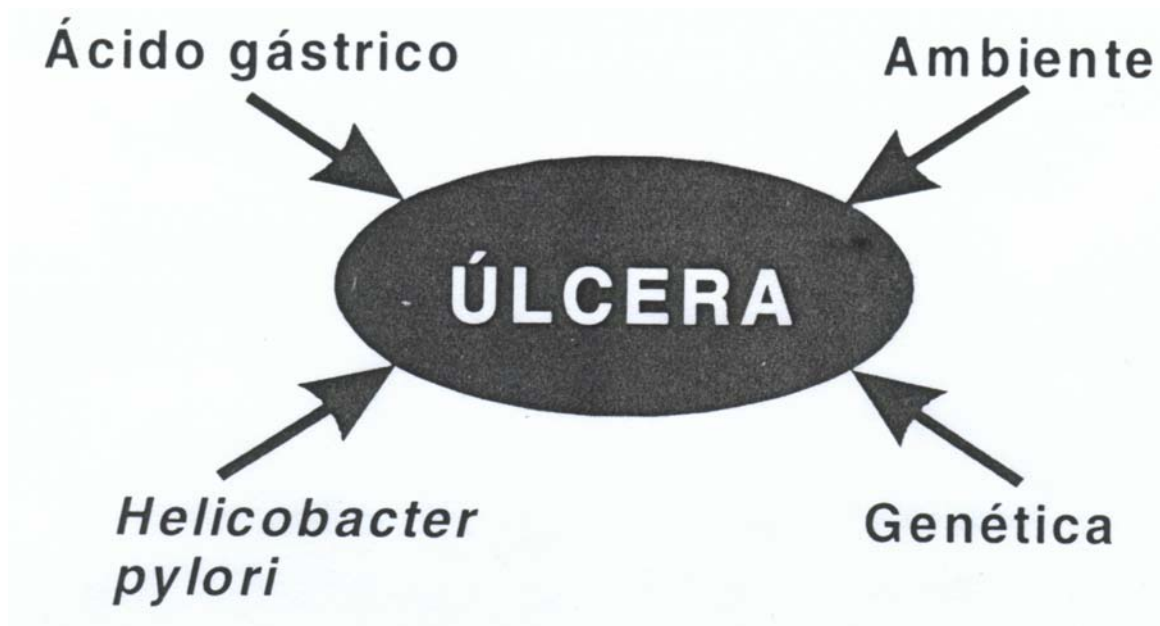


Figura 4. Posibles causas de la úlcera péptica.

La bacteria probiótica puede ser antagonista del *Helicobacter pylori*. El *Lactobacillus salivarius* ha mostrado que *in vitro* inhibe la habilidad del *H. pylori* para colonizar la mucosa del estómago del ratón. En la práctica clínica, un ensayo clínico triple terapéutico con y sin la adición de *L. acidophilus* fue conducido entre 120 pacientes con *H. Pylori*. Las tasas de erradicación fueron significativamente más altas (87% vs 70%) en el grupo suplementario con probióticos. Una evaluación más profunda es necesitada; sin embargo, estos resultados iniciales son prometedores (Maguiña y Barrionuevo, 2002).

b) Control de Enfermedades Diarreicas.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la diarrea, cuando en el cuadro clínico se presentan deposiciones fecales de forma líquida por lo menos tres veces en un periodo de 24 horas (Danone Inc., 1997 c).

La diarrea es un problema común de salud que afecta a todos, hombres y mujeres, alguna vez en la vida. Las causas son variadas, y el impacto en la salud y el bienestar es ocasionado por pequeñas incomodidades a severa

malnutrición y muerte. Los infantes y niños son particularmente vulnerables, especialmente en países en vías de desarrollo, donde arriba de un billón de casos ocurren al año, de los cuales, aproximadamente cuatro millones de muertes son a causa de diarrea (Danone Inc., 1995 a).

Fernández y cols (1992), mencionan que una causa de los disturbios intestinales es la alteración de la microbiota bacteriana tras la invasión o infección de patógenos causantes de enfermedades bacterianas. Danone Inc. (1994 b), menciona que muchos de los disturbios intestinales son causados por agua o alimentos contaminados con bacterias o virus, manejados con poca higiene.

Una infección gastrointestinal puede ser causada por bacterias, protozoarios o virus. Sin embargo, para una perspectiva de público saludable, la problemática clínica de infecciones ha sido atribuida a que por algunos años algunos organismos como *Vibrio cholerae* O1, *Shigella*, *Salmonella* y *Entamoeba histolytica* que causa disenteria amibiana (Kudoh, 1997).

Ballabriga (1999), menciona que el campo de los probióticos abre grandes perspectivas para su empleo debido a los efectos favorables que pueden tener en la participación de los mecanismos de defensa antiinfecciosa y en la promoción de los mecanismos endógenos de barrera en caso de alergia alimentaria y también en una amplia serie de indicaciones clínicas.

Según Danone Inc. (1995 a), las leches fermentadas protegen contra la diarrea de dos formas diferentes. Principalmente, estas son alimentos higiénicos con una baja tasa de desarrollo de microorganismos patógenos. Segundo, pueden ejercer un efecto dentro del individuo que ayude a prevenir las infecciones.

Un gran número de estudios se han realizado en diferentes países para la prevención y tratamiento del rotavirus de la diarrea en niños. Otra área de intensa investigación es en la investigación y tratamiento de diarreas asociadas con antibióticos. Al igual se han hecho estudios en la prevención de la diarrea

del viajero, pero los resultados son controversiales probablemente por las propiedades de las cepas probióticas y la etiología multifactorial de la enfermedad (Salminen, 2000). Otras formas de diarrea que pueden ser tratadas en parte con BAL son, diarreas asociadas con la intolerancia a la lactosa y otras (Danone Inc., 1994 b).

Torres (2002), menciona que en la profilaxis de infecciones el organismo probiótico puede ocupar el nicho ecológico dentro del intestino, que de otra manera ocuparía o tomaría un patógeno. De manera similar si dichos microorganismos no patógenos pueden desplazar y establecerse en lugar de los patógenos la recuperación de una infección se puede llevar a cabo. No se conoce con claridad como un probiótico puede interferir con la colonización de un patógeno en el tracto intestinal. Esto puede involucrar secreciones de sustancias tóxicas para los patógenos. Las bacterias probióticas pueden competir con los patógenos por los nutrientes lumbinales u ocupar receptores adhesivos e inhibir el ataque a las mucosas. También pueden existir efectos indirectos como resultado del mejoramiento de la respuesta inmune del huésped como es el caso de la activación del macrófago o la estimulación de anticuerpos.

D'Souza y col. (2002); evaluaron la eficacia de los probióticos en la prevención y tratamiento de la diarrea asociada con el uso de antibióticos, siendo un estudio de nueve experimentos a doble ciego y con un placebo. Donde de los nueve estudios que se realizaron, en cuatro se utilizaron cepas de lactobacilos y cuatro utilizaron una levadura *Saccharomyces boulardii* y una cepa de enterococos que produce ácido láctico. Los resultados arrojados por el estudio sugieren que los probióticos pueden ser usados para prevenir la diarrea asociada con antibióticos y que *S. boulardii* y lactobacilos tienen un potencial de uso excelente en estas situaciones.

Saavedra y col. publicaron un estudio sobre la prevención de diarrea infecciosa en los niños. Usando niños admitidos en cuidados crónicos, una fórmula estándar infantil fue suplementado con dos cepas de bacterias probióticas (*Bifidobacterium bifidum*, *Str thermophilus*). Niños con edades

mayores de dos años aleatoriamente recibieron la fórmula con el suplemento probiótico o la fórmula estándar y fueron seguidos para observar el desarrollo de diarreas y el desarrollo de infección por rotavirus. En los sujetos del grupo de probióticos se desarrolló una proporción estadísticamente menor en diarreas (7% vs 31%) como en infección por rotavirus (10% vs 39%); (Maguiña y Barrionuevo, 2002).

4.6.2. Intolerancia a la lactosa.

La intolerancia a la lactosa se refiere a una variedad de síntomas gastrointestinales causados por una mala digestión de la misma. La lactosa no digerida en el intestino delgado, por la lactasa, puede causar dolor abdominal y diarrea osmótica (Danone Inc., 1996). Para digerir la lactosa se precisa de la enzima lactasa que se produce normalmente en la mucosa intestinal y que transforma la lactosa en unidades de glucosa y galactosa (www.consumer.es; 2004). Conforme pasa al cólon, la lactosa es fermentada por colonias de bacterias, resultando la producción de ácidos orgánicos de cadena corta, tales como, el acetato, propionato y butirato y los gases hidrógeno, metano y bióxido de carbono. La mayoría de estos productos son reabsorbidos en el colon, pero cantidades producidas en exceso pueden resultar en la presencia de gas rectal, calambres, dolor y distensión abdominal así como diarrea osmótica. Estos síntomas pueden ocurrir desde treinta minutos hasta varias horas después de la ingestión de lactosa. No se conocen otros efectos adversos a la salud (Danone INC., 1993).

La cantidad de lactasa en la mucosa intestinal va disminuyendo con la edad, por lo que es relativamente frecuente que aparezcan sintomatología típica en edades avanzadas hasta en un 15 ó 20% de la población. Este es el principal motivo por el cual muchas personas mayores abandonan el consumo de la leche, lo que resulta sumamente problemático ya que pierden una fuente esencial de calcio (www.consumer.es; 2004).

Los microorganismos presentes en el yogur tienen la capacidad de digerir la lactosa *in vivo* en el tracto digestivo de los humanos que los ingieren.

Por lo que la mayoría de los individuos intolerantes a la lactosa pueden tolerar 20 gr de lactosa en el yogur (Savaiano, 1987).

Rosado (1997), dice que el aumento en la digestión de la lactosa que se ha observado cuando se consume yogur, se debe a un proceso de autodigestión por beta galactosidasa en el intestino. El yogur al ser inoculado con *Lb. bulgaricus* y *Str. thermophilus* o algunas cepas probióticas, estos microorganismos sintetizan la enzima beta-galactosidasa, la cual disminuye el nivel de lactosa en el concentrado de leche. Durante la fermentación, el pH baja a 4.6 aprox., disminuyendo la actividad de la lactasa por una combinación de pH y bajas temperaturas, las cuales se utilizan durante el almacenamiento. Cuando se ingiere el yogur, la caseína, el lactato y el fosfato de calcio actúan como amortiguadores y protegen a la enzima de una destrucción por el ácido clorhídrico del estómago, esto permite que la enzima alcance el duodeno en forma intacta y también ahí ejerza actividad sobre la lactosa.

Savaiano (1987), menciona que son tres las formas del yogur con respecto a su actividad enzimática las cuales son: 1) La capacidad de neutralizar el ácido del estómago que depende de la acción amortiguadora del yogurt, 2) la resistencia de las células microbianas a la degradación ácida del estómago o a la degradación por enzimas y 3) el efecto de las enzimas digestivas y los ácidos biliares del estómago en las células microbianas que producen la actividad de la beta-galactosidasa.

El diagnóstico de la intolerancia a la lactosa se puede realizar de una forma sencilla con un “test del aliento de hidrógeno”. El test del alimento consiste en beber un preparado líquido con lactosa y soplar durante cinco horas en una bolsa cada treinta minutos, recogiéndose la cantidad de hidrógeno que se elimina en el aire exhalado. La cantidad de hidrógeno determinará el diagnóstico de intolerancia a la lactosa. Esta prueba requiere una preparación previa, que consiste fundamentalmente en evitar la toma de antibióticos en las dos semanas previas a la realización de la misma, así como evitar la ingesta de hidratos de carbono (azúcares) las veinticuatro horas antes (www.ua-cc.org; 2004).

De las Cagigas y Blanco (2002), reportan que en un estudio realizado por ellos mismos en donde se evaluó la habilidad de las diferentes especies de BAL para digerir la lactosa. Los yogurts inoculados con cultivos tradicionales tuvieron una buena aceptación en la degradación de glucosa, mientras que en leches fermentadas utilizando bifidobacterias mostraron mejorar la digestión de lactosa de una forma completa o casi completa.

4.6.3. Infección del tracto urinario (ITU)

Para mejorar eventualmente las medidas para prevenir y manejar las ITUs recurrentes no complicadas, varios aspectos de la patogénesis están bajo investigación: la ecología microbiológica de la ITU, bases moleculares de interacciones entre el parásito y el huésped y el desarrollo de una vacuna. El rol protector de la bacteria comensal normal de la vagina, en particular especies de *Lactobacillus*, ha sido sospechada pero no cuidadosamente estudiada. Los *Lactobacillus* son especies microbianas predominantes en el ambiente normal de la vagina pero que frecuentemente se encuentran ausentes cuando la infección genitourinaria ocurre. A pesar que el mecanismo por el cual el lactobacilo podría proteger contra las ITUs no han sido aclaradas todavía, hay muchos mecanismos potenciales severos por los cuales estos microorganismos podrían actuar: 1) Contribuyendo al mantenimiento de un ambiente ácido en la vagina, el cual reduce la colonización de *E. coli*; 2) Interfiriendo en la adherencia de los uropatógenos, tales como *E. coli* obstrucción entérica entre otros mecanismos; y 3) La producción de H₂O₂, el cual interacciona con la peroxidasa en la vagina para destruir al *E. coli*, o quizás por la elaboración de otros componentes antimicrobiales todavía no definidos. También es posible que otra especie microbiana en la flora vaginal juega un rol importante en regular la susceptibilidad para ITUs, pero esta ha sido poco estudiada. En ensayos probióticos preliminares de *Lactobacillus* en forma de supositorio vaginal para prevenir la recurrencia de ITUs que han sido conducida en humanos y en modelos animales, algunos estudios muestran los posibles beneficios y otros muestran efectos pequeños (Maguiña y Barrionuevo, 2002).

4.6.4. Efectos Inmuno-moduladores.

El sistema inmune esta conformado por varias células incluyendo; células dendríticas, macrófagos, células B y células T y granulocitos (neutrófilos, basófilos y otros). Tomando su papel asignado en la formación y elaboración del sistema en el rol de la inmunidad. Estas células son generalmente llamadas células de inmunidad y son aproximadamente un trillón y pesan cerca de un kilogramo en adultos (Taniguchi, 1997).

En la Danone Inc. (1995 b) se menciona que el sistema inmune representa la segunda línea de defensa en contra de microorganismos y su respuesta involucra una compleja interrelación de varios componentes. Esencialmente son tres partes involucradas en ésta respuesta: reconocimiento de las células extrañas, destrucción de la materia extraña y regulación de la respuesta directa por medio de controles de retroalimentación.

El tejido linfoide asociado al sistema digestivo (GALT, por sus siglas en ingles) comprende las amígdalas, adenoides, apéndice y tejidos especializados del intestino delgado llamados placas de Peyers. El GALT contiene un repertorio completo de células del sistema mononuclear-fagocítico y células B y T. En las placas de Peyers, las células de los micropliegues (Cel. M) toman muestras de los antígenos extraños de la luz intestinal y los macrófagos los procesan para su presentación a los linfocitos CD4+ (T4). Los linfocitos CD4+ producen Interleucina-2 (IL-2), IL-4 e IFN-gama que estimulan a los linfocitos B en los folículos para convertirlos en células productoras de IgA. Los linfocitos B estimulados emigran, a través de los ganglios linfáticos, el conducto torácico, y el torrente sanguíneo, antes de alojarse en la lamina propia del intestino (situada por debajo del epitelio del intestinal. Ahí experimentan la diferenciación final por la influencia de la IL-6 producida por los linfocitos de la lamina propia. Cuando estas células plasmáticas producen dímeros de IgA, estas se ligan a los receptores de la superficie de las células epiteliales y son transportados en vesículas a través de la células. Son liberados en la luz intestinal en forma de

Inmunoglobulina secretora (sIgA) después de haber sido conectados a los componentes secretores por la célula epitelial (Prescott y col,1999).

Perdigon, et al (1995), mencionan que la interacción del antígeno con las células del sistema inmune induce una respuesta celular mediada por las células activas y una inmunorespuesta humoral mediada por los anticuerpos. Estas interacciones complejas inducen una inmunorespuesta sistémica. Si el antígeno penetra por la ruta oral, se obtiene una inmunorespuesta secretora, que es mediada por la (sIgA). Adolfsoon y col (2004), dicen que la sIgA es la inmunoglobulina principal de la inmunorespuesta humoral y que junto con las defensas naturales de la mucosa proporciona protección contra los antígenos microbianos en la superficie de la mucosa.

Se sabe poco del efecto de los probióticos sobre el sistema inmune. Las primeras experiencias indican que en niños tratados con *L. casei* la cantidad de Ig A circulante es más elevada que en los no tratados y que su respuesta ante infecciones del tracto digestivo es mucho mejor. De igual forma, la ingestión de alimentos enriquecidos con *Lb. casei* y *Bifidobacterium bifidum* aumenta la actividad de los granulocitos circulantes, así como la estimulación en la producción de citoquinas por parte de los monocitos, interferón-gama, IL-1, y TNF (Marquina y Santos, 2002).

Yasui (1997), basándose en investigaciones realizadas con *Bifidobacteria breve*, menciona que se pone de manifiesto que éstas bacterias activan las células de las placas de peyers, promueven la producción de citoquinas por medio de las IL-4 y IL-5 y así intensificar la producción de IgA. Además, cuando éstas bacterias se sumaron a las células de las placas de peyers junto con sustancias antigénicas tales como rota virus, poli virus, o los virus de la influenza, los anticuerpos de IgA se produjeron en grandes cantidades. Esto sugiere que las bifidobacterias tienen un efecto coadyuvante (intensifica la respuesta inmune) y claramente indica la intensificación específica de la producción de IgA.

Kato (1997), describe que para la estimulación de macrófagos, *Lb. casei* realiza el factor de producción de macrófagos, factor citotóxico del macrófago, el factor necrótico tumoral, IL-1 y el factor estimulador colonico. *Lb. casei* también promueve la producción de IL-2 e interferon para las células T en sangre.

Perdigón y col (1995) estudiaron el efecto de diferentes tipos de BAL y yogurt en la respuesta inmune sistémica; concluyendo que *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. delbruekii ssp bulgaricus* y el yogurt inducen un incremento en la respuesta inmune sistémica a diferentes niveles de estimulación y que *Lb. casei* es el más efectivo. También estudiaron el efecto de éstos sobre el sistema inmune secretor, para lo cual alimentaron ratones con 1.2×10^9 cel/d para cada ratón durante 2, 5 y 7 días. Los resultados demostraron que *Lb. casei*, *Lb. acidophilus* y el yogurt incrementaron el número de células productoras de IgA y el efecto se eleva cuando la dosis también se incrementa. Observaron también que, para el séptimo día de alimentación con *Lb. acidophilus* el número de células productoras de IgA disminuyó, debido, tal vez, a que éste disminuye el número total de células linfoides.

Perdigón y col (1999), mencionan que el efecto de incrementar el número de células productoras de IgA, se vio más marcado cuando *Lb. casei*, *Lb. plantarum*, *Lb. delbruekii ssp bulgaricus* y *Str. salivarius ssp thermophilus* fueron administrados. Además demostraron que solamente *Lb. casei* y *Lb. plantarum* fueron capaces de incrementar las células T CD4⁺ en la lamina propia de el intestino delgado. El efecto fué dosis dependiente.

Un estudio reciente reportó que las leches fermentadas con *Lb. acidophilus* no alteraba la secreción de inmunoglobulinas en el yeyuno, pero conducían a un incremento de las IgA séricas. Recientemente, Schiffrin y cols observaron un incremento en la actividad fagocítica de los leucocitos sanguíneos en sujetos después de tres semanas de ingestión de una leche fermentada con *Lb. acidophilus*. De Simone y cols observaron un incremento en la frecuencia de células B en la sangre periférica y un incremento de

TNFalfa en algunos sujetos después de la ingestión de una combinación de *Bifidobacterium bifidum* liofilizada y *Lb. acidophilus* (Danone Inc 13, 1997c).

4.6.5. Actividad Antitumoral.

Adachi (1992), menciona que se ha encontrado que diferentes enzimas bacterianas del intestino están implicadas en carcinogénesis por la generación de mutágenos, carcinógenos y promotores de tumores (Gorbach, 1989). Tales enzimas son β -glucosidasa, β -glucoronidasa, nitroreductasa, azoreductasa y esteroide 7- α -deshidroxilasa. β -Glucosidasa puede hidrolizar glucosidos a aglicones mutagénicos tales como la quercitina a rutina (Macdonal et al, 1984) y la metilazoximetanol a cicasina (Laqueur y Spatz, 1975). La β -Glucoronidasa juega un papel en la generación de aglicones carcinógenos formados en el cólon del huésped, tales como el 3-hidroxi**benzopireno** a 3-hidroxi**benzopireno**- β -glucoronico (Kinoshita y Gelboin, 1978). La nitroreductasa y la azoreductasa están relacionadas con la producción de aminas aromáticas quienes pueden ser convertidas a nitroso y N-hidroxicompuestos en muchos tejidos. El esteroide 7- α -deshidroxilasa es responsable de la formación de ácido litocólico del ácido senodeoxicólico el cual es un ácido biliar primario. El ácido litocólico es un ácido biliar secundario formado por enzimas bacterianas en el cólon, es una sustancia co-carcinogena.

El consumo de productos lácteos fermentados, conteniendo BAL viables reducen la posible iniciación de cáncer de cólon. El cambio favorable en la microflora intestinal puede directa o indirectamente reducir la conversión de pro-carcinógenos a carcinógenos (Fernández y col, 1992).

Sanders (2000), enumeró los posibles mecanismos por los que los probióticos interfieren con el cáncer de cólon y tumores:

- 1.- Realzan la inmunorespuesta del huésped.
- 2.- Supresión del crecimiento y actividad de microorganismos intestinales que producen a los agentes carcinógenos o promotores, por la

colonización competitiva o la producción de inhibidores (bacteriocinas o AGCC).

3.- Captación y desecho de agentes carcinógenos.

4.- Producción de agentes antimutágenos.

5.- Producción del butirato para estimular la muerte celular de células anormales.

6.- Inhibición de la conversión de las sales biliares a sales biliares secundarias.

Un mecanismo de la supresión de tumores puede implicar un papel de *B longum* como inmunomodulador y/o un modificante biológico de la respuesta (Okawa et al 1993; Sekine et al 1995). Por ejemplo la administración de bacterias intestinales viables o no viables en ratones libres de gérmenes ha demostrado un incremento en la producción de plasmocitos de inmunoglobulina A (George, 1994). Kohwi et al (1978), demostraron que las inyecciones intraperitoneales de bifidobacterias inhibieron las células del tumor Meth-A transplantadas subcutáneamente en ratones. Sekine et al (1995) y Okawa(1993), demostraron que una fracción de bifidobacterias solubles en agua inducen un efecto antitumor y desempeñan un papel importante como inmunomoduladores en los intestinos de humanos y animales (Reddy, 1999).

Sanders, (1993) sugiere que la evidencia más fuerte que existe de las bifidobacterias en el huésped es la modulación de las actividades enzimáticas de las poblaciones bacterianas en el cólon, las cuales a su vez podrían estar asociadas con promoción de tumores. Por ejemplo, la incidencia en el cáncer de colon fué más alto y la población de *Clostridium perfringens* fue mas baja. En algunos estudios se mostró que la administración de bifidobacterias o lactobacilos en animales disminuyeron los tumores o los folículos aberrantes del colon, éstos últimos son supuestamente lesiones precancerosas (González y Azaola, 1997).

Matsuoka (2000), menciona que *Lb. casei* cepa *shirota* activa los macrófagos intensificando la fagocitosis y la actividad de las citocinas. Este organismo además estimula los macrófagos para producir interleucina-12 que

entonces estimula la diferenciación de células T y la producción de interferón- γ . De este modo, se activa el sistema de citocina, *Lb. casei shirota* activa las células destructoras (natural killer) y promueve la inmunidad celular. Por este mecanismo *Lb. casei shirota* suprime la carcinogenesis o intensifica la inmunidad anti-tumoral del huésped.

4.6.5. Disminución de Colesterol.

Sanders (2000), menciona que los mecanismos de bacterias probióticas en la regulación del colesterol sérico son desconocidos. Una hipótesis sugiere que algunas cepas de lactobacilos como lo es *Lb acidophilus* asimilan la molécula de colesterol (Gilliland et al., 1985). Otro mecanismo propuesto se basa en la capacidad de ciertos lactobacilos y bifidobacterias de desconjugar ácidos biliares enzimáticamente, aumentando sus índices de excreción (De Smet et al., 1994). Por ser el colesterol un precursor de ácidos biliares, esto podría conducir a la reducción del colesterol sérico, ya que las moléculas de colesterol se convierten en ácidos biliares para sustituir los perdidos a través de la excreción. Otro mecanismo, propuesto por Mann (1977), postula que el ácido 3-hidroxi-3-metil glutarico (HMG) de las leches fermentadas inhibe la hidroximetil reductasa glutarica CoA, que es una enzima que interviene en la biosíntesis del colesterol. Esta hipótesis no se ha confirmado en estudios animales ni humanos.

El *Lb. acidophilus* ATCC 43121 puede incorporar algo de colesterol del medio en la membrana celular durante su crecimiento (Noh et al., 1997) y ha influenciado benéficamente en los niveles de colesterol del suero (Gillilan et al., 1985; De Rodas, 1996). Esto es porque el colesterol incorporado a las células de bacterias probióticas en el intestino es probable ser inasequible para la absorción en la sangre. La capacidad de incorporar el colesterol a las células de bacterias se ha comparado con la capacidad de eliminar el colesterol de los medios (Kimoto y cols., 2002).

Ferrer y Dalmau (2003), mencionan que los probióticos aumentan la actividad de las hidrolasas de las sales biliares que se unen al colesterol y

ayudan a su eliminación, por lo que tienen un efecto hipocolesterolémico. Mediante la producción de triglicéridos de cadena corta inhiben la síntesis de colesterol, lo redistribuyen desde el plasma al hígado y, por deconjugación de las sales biliares, el colesterol no se reabsorbe y es utilizado para la síntesis *de novo* de ácidos biliares.

Taranto y cols. (2000), reportan que la administración de *Lb. reuteri* CRL 1098 (10^4 cel/d) a ratones por 7 días antes de inducir hipercolesterolemia. En esta dosis, el *Lb reuteri* es eficaz en la prevención de hipercolesterolemia en ratones, produciendo un aumento del 17% en el cociente de la lipoproteína de alta densidad sobre la lipoproteína de baja densidad. El colesterol y los triglicéridos totales disminuyeron en un 22 y 33%, respectivamente en el grupo que fue alimentado con los lactobacilos.

En un estudio se involucra la adición de células de *Lb acidophilus* a una fórmula infantil para determinar el efecto por el microorganismo sobre los niveles de colesterol sérico y sobre la flora intestinal de los infantes (Harrison y Pent, 1975). Tres grupos de infantes fueron tomados: Un grupo control, el segundo grupo recibió una fórmula suplementada con bicarbonato de sodio y el tercer grupo recibió una fórmula suplementada con *Lb. acidiphilus*. Los niveles de colesterol sérico en los infantes quienes recibieron la fórmula conteniendo, *Lb. acidophilus* o el bicarbonato de sodio disminuyeron significativamente durante el periodo experimental mientras que el grupo control demostró un ligero aumento. El descenso fué asociado con el incremento del número de lactobacilos en el excremento de los infantes (Gilliland, 2000).

4.7. OBTENCIÓN

4.7.1. Selección de la cepa.

Los cultivos que se emplean en las fermentaciones de los distintos alimentos se seleccionan teniendo en cuenta su estabilidad y su capacidad para producir de forma eficaz los alimentos o las modificaciones deseadas. Se pueden tratar de cultivos estabilizados procedentes de otros laboratorios, o

bien son cultivos que han sido seleccionados después de haber comprobado su actividad fermentativa entre una gran cantidad de cepas. La selección de cultivos con propiedades deseables se puede llevar a cabo a partir de cepas nuevas aisladas del medio, a partir de cepas ya existentes, o tras provocar mutaciones por distintos medios (Frazier ,1969).

Alais (1970), menciona que la selección de las cepas lácticas resulta del estudio de aquellas que se han aislado de los productos lácticos por los métodos habituales del análisis microbiológico y describe las propiedades que generalmente se toman en consideración:

- a) Temperatura de crecimiento y actividad
- b) Acidificación.
- c) Producción de sustancias aromáticas.
- d) Actividad proteolítica.
- e) Variabilidad de las cepas.
- f) Viscosidad de los cultivos.
- g) Sensibilidad a los “fagos”.

Para el caso específico de los microorganismos probióticos los criterios de selección mencionados por Ballabriga en (1999) y que se describieron en uno de los subíndices antes mencionados.

4.7.2. Obtención de Probióticos

En la figura 5 se presenta la manera en la cual se obtienen los microorganismos probióticos.

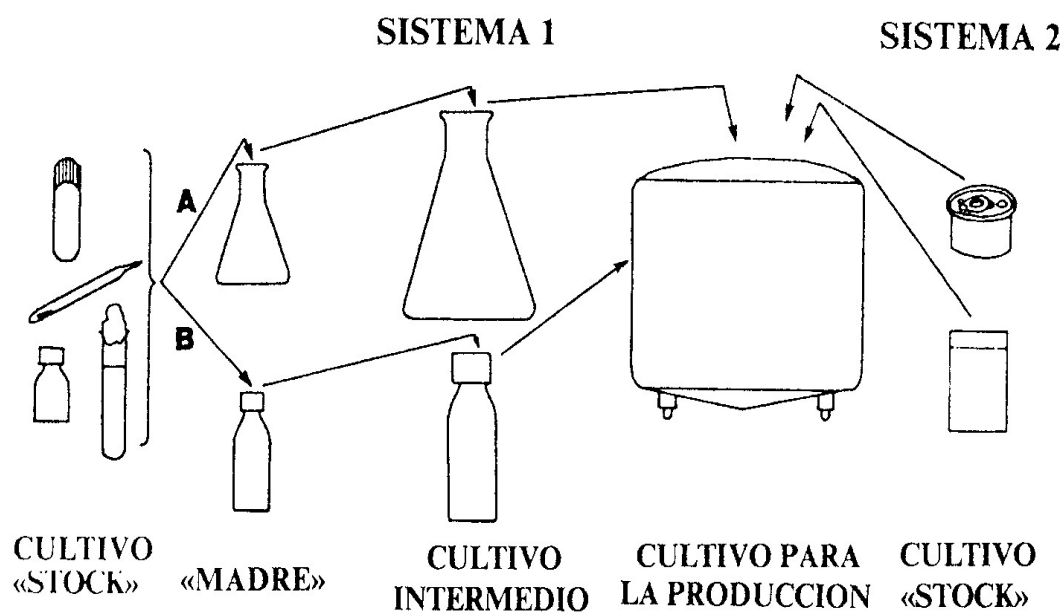


Figura 5. Mecanismo de obtención de microorganismos probióticos

4.7.3. Métodos de Conservación.

La conservación de los microorganismos iniciadores puede realizarse por uno de los siguientes métodos (Robinson, 1987; Tamime y Robinson, 1991):

- (1) Cultivos iniciadores líquidos.
- (2) Cultivos iniciadores deshidratados
 - i) Deshidratados por atomización
 - ii) Liofilizados
 - iii) Concentrados por liofilización
- (3) Cultivos iniciadores congelados
 - i) Congelados a -40°C
 - ii) Ultracongelados a -196°C en nitrógeno líquido.

4.7.3.1. Cultivos Iniciadores líquidos.

En estado líquido es la forma más popular y más ampliamente utilizada para la manipulación de los cultivos en las fábricas de productos lácteos. Los cultivos iniciadores se conservan habitualmente en pequeñas cantidades y es

necesario tener un volumen apropiado para la fabricación de cualquier producto (Robinson, 1987).

Los cultivos iniciadores pueden conservarse en estado líquido utilizando dos tipos de medios de cultivos. El primero de ellos es la leche en polvo desnatada reconstituida (10 - 12% ESM) libre de antibióticos. La leche se esteriliza en autoclave entre 10 - 15 psi (0.7 - 1 atm) durante 15 minutos y se incuba a 30 °C / 1 semana para comprobar su esterilidad. Tras la inculación (1 ó 2%) la leche se incuba a 30°C durante 16-18 horas o a 42°C durante 3-4 horas. Tras este período de incubación, el cultivo coagulado debe refrigerarse inmediatamente, pudiendo ser almacenado por una semana en refrigeración, es decir, a temperatura inferior a 10°C. A este tipo de cultivo se le conoce en la industria como cultivos de reserva de trabajo (Robinson,1987 y Tamime y Robinson, 1991).

El otro método es la utilización de leche *litmus* (leche desnatada en polvo reconstituida 10-12% ESM; disolución de extracto de *litmus* (5%); extracto de levadura al 0.3%; glucosa/lactosa 1%; carbonato cálcico en cantidad suficiente para cubrir el fondo del tubo de siembra; 0.25% de panmede y 1% de lecitina ajustados a pH 7). Estos cultivos sólo tienen que ser reactivados una vez cada 3 semanas y son conocidos como cultivos de reserva (Tamime y Robinson, 1991).

4.7.3.2. Cultivos deshidratados

a) Deshidratados por Atomización.

Un método alternativo de conservar los cultivos iniciadores es la deshidratación. El desarrollo de tal proceso persigue evitar el trabajo que implica el mantenimiento de los cultivos stock en estado líquido. Así mismo, facilita el comercio de los cultivos sin que pierdan actividad (Robinson,1987).

La deshidratación por pulverización o atomización, fue utilizada en primer lugar en Holanda para la conservación de cultivos iniciadores para

queso (Tamime y Robinson, 1991). Aunque se probó que este procedimiento constituía un avance en la tecnología de cultivos iniciadores, no se ha desarrollado comercialmente. La razón de ello podría ser la baja supervivencia de los cultivos deshidratados, del orden del 10% para la mayoría de las bacterias ácido-lácticas mesófilas y de un 44% para *Str. lactis* sp *diacetylactis*. Sin embargo, la adición de monoglutamato sódico y ácido ascórbico a un cultivo iniciador propagado en un medio tamponado protege a las bacterias y el cultivo deshidratado por atomización retiene su actividad después de su mantenimiento por seis meses a 21°C (Robinson,1987).

Según Tamime y Robinson (1991), en Suecia se a puesto en consideración otro tipo de cultivo estárter deshidratado para yogurt, el cual presenta las siguientes ventajas:

La deshidratación se lleva a cabo a temperaturas elevadas, 75 - 80°C, sin causar daño alguno a las bacterias.

Permite mantener diferentes relaciones entre *Str. thermophilus* y *Lb. bulgaricus* en el cultivo conservado. Por ejemplo de 40:60 ó 60:40.

El método sueco de deshidratación por pulverización puede resumirse del modo siguiente:

- 1.-Siembra del cultivo en leche desnatada concentrada esterilizada (18-24%EST).
- 2.- Enriquecimiento del medio con lisina, cistina y cianocobalamina.
- 3.- Deshidratación a 75 - 80°C.

b) Cultivos Liofilizados.

Éstos se obtienen mediante deshidratación de los cultivos previamente congelados. Este método de conservación de los cultivos iniciadores goza de gran popularidad y permite aumentar la seguridad de los cultivos conservados, garantizando un elevado número de microorganismos viables y un máximo porcentaje de supervivencia durante su almacenamiento, en comparación con los cultivos deshidratados a vacío o por pulverización (Tamime y Robinson, 1991).

De acuerdo con Robinson (1987), los cultivos liofilizados tienden a tener un fase de potencia larga y se utilizan como inóculos para la preparación del cultivo madre (Véase figura 5 sistema 1). Se necesitan mayores cantidades cuando se utilizan para la inoculación directa; así mismo, la incubación puede requerir un tiempo mayor que el habitual (Sellars y Babel, 1978).

c) Concentrados por Liofilización.

Robinson (1987), al igual que Tamime y Robinson (1991), coinciden que los cultivos concentrados liofilizados son utilizados para la inoculación directa de la leche con el fin de obtener el cultivo final, el que se utilizara para la producción (Véase figura , sistema 2) o para la adición directa de la leche ya en la cuba, destinada a la fabricación de cualquier tipo de producto lácteo fermentado o algún tipo de queso.

4.7.3.3. Cultivos iniciadores congelados

a) Cultivos Congelados a -40°C .

Para la conservación de los cultivos madre e intermedios la leche líquida estéril recién sembrada con un cultivo estárter activo se congela a -40°C . Los cultivos así congelados pueden mantener su actividad durante varios meses, habiendo alcanzado este método gran popularidad en la industria láctea, ya que los cultivos obtenidos en laboratorios pueden ser enviados a las industrias en hielo seco siempre que se necesiten. El procedimiento para su reactivación es el siguiente (Tamime y Robinson, 1991):

Sacar el cultivo del congelador, (-40°C)

Descongelar rápidamente el cultivo en un baño de agua a 20°C

Incubar a 42°C hasta alcanzar la acidez deseada

Refrigerar y mantener una noche en refrigeración

Resembrar el cultivo intermedio o definitivo (Véase figura ,Sistema 1).

b) Ultracongelación a -196°C en Nitrógeno Líquido

Robinson (1987), menciona que la congelación de los cultivos en nitrógeno líquido ha hecho posible la inoculación directa de la leche destinada a la fabricación de queso y yogurt o a la obtención de cultivo final (véase la figura 5, sistema 2). Las ventajas de este método son las siguientes: comodidad, seguridad del cultivo, fiabilidad del cultivo usado diariamente y del balance de cepas, mayor flexibilidad, un control de fagos más adecuado y una mejora de la calidad. Las desventajas son: dificultad en el suministro de nitrógeno líquido, mayor costo, mayor dependencia de los suministros de cultivos y desconocimiento de la responsabilidad en el caso de fallo del cultivo (Tamime y Robinson, 1976; Wigrey, 1977).

4.7.4. Sistemas de Producción de Cultivos

Los sistemas más utilizados para la producción de cultivos son principalmente dos: el uso de tanques protegidos mecánicamente y la propagación del cultivo en medio fago - resistente/inhibidor (PRM / PIM). El primer método se utiliza en Reino Unido, Australia y Nueva Zelanda y el último es un sistema muy utilizado en Estados Unidos (Robinson, 1987 y Tamime et al, 1991).

4.7.4.1. Sistemas Protegidos Mecánicamente.

Existen dos aspectos en la producción de cultivos en sistemas protegidos mecánicamente que es importante mencionar. Primero, el medio de cultivo se somete a tratamiento térmico y se refrigera hasta la temperatura de incubación en una cuba completamente cerrada y, segundo, la siembra del cultivo se efectúa a través de una barrera que evita la entrada de aire. El resultado de ello ha sido el desarrollo de distintos sistemas protegidos, siendo los más importantes los que se describen a continuación (Tamime, 1991).

a) Sistema de Lewis.

El desarrollo de esta técnica conlleva la utilización de dos agujas hipodérmicas para llevar a cabo las resiembras del cultivo madre a partir del cultivo de reserva, del cultivo intermedio a partir del cultivo de madre y del cultivo final con el cultivo intermedio. Todas las inoculaciones se hacen a través de una capa de agua clorada. Para facilitar la transferencia de los cultivos se utilizan en todas las siembras botellas de polietileno blandas reutilizables. Éstas se cierran con juntas de caucho Astell y tapones de rosca. Las botellas se llenan con el medio de cultivo y se cierran con la junta y el tapón de rosca. En las transferencias intermedias el espacio anular que queda en las juntas astell se llena con una disolución de hipoclorito con una concentración de 100-200 mg/l. Finalmente para hacer la siembra, se comprime la botella que contiene el medio de cultivo tal y como se ve en la figura 6.

En éste sistema la leche se calienta en un contenedor cerrado a presión. El contenedor a presión de acero inoxidable se encuentra totalmente sumergido en un tanque de agua aislado que proporciona una máxima protección frente a la contaminación por aire y mantiene constante la temperatura durante la incubación. El sistema de agitación lleva acoplado un doble cierre mecánico y el espacio que queda entre las juntas se llena con agua a presión para asegurar una adecuada protección frente a la contaminación, así como refrigeración y lubricación. La transferencia del cultivo intermedio al tanque del cultivo final se realiza a través de una barrera estéril de agua clorada. En la figura 7 se presenta el esquema del tanque de Lewis fabricado por Wincanton Engineering. También pueden emplearse con esta finalidad alcántaras de 22.7 ó 44.5 lts de capacidad provistas de tapas especiales que permitan la siembra.

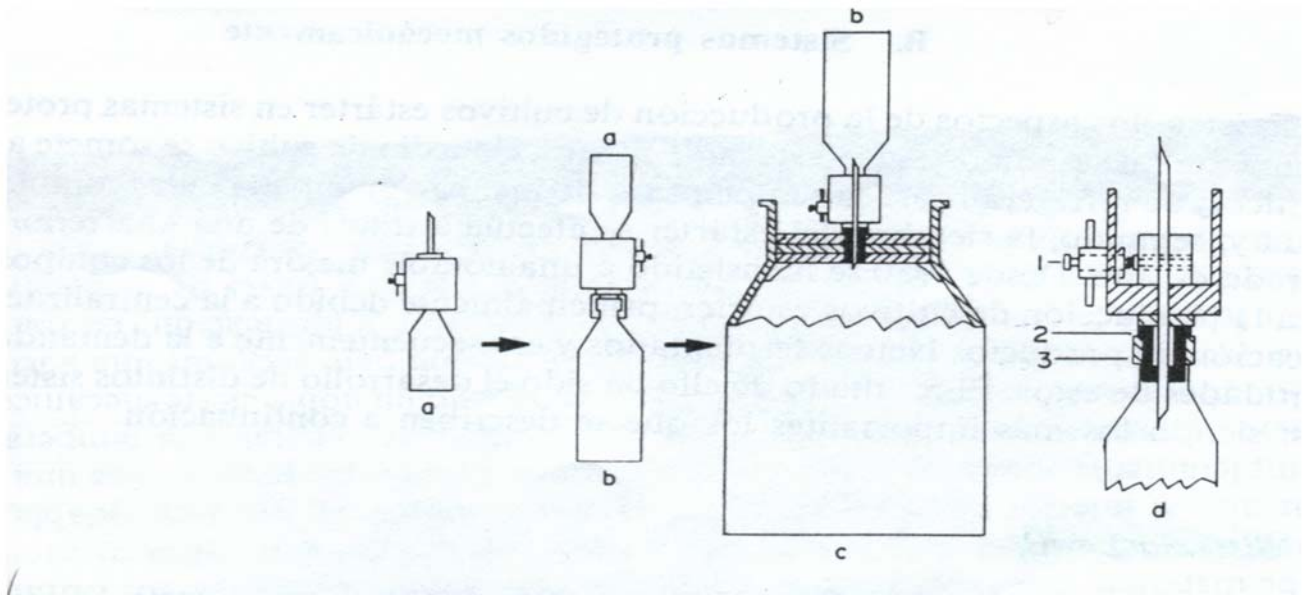


Figura 6. Esquema del sistema Lewis.

Figura 7. Esquema del tanque de Lewis fabricado por Wincanton Engineering

b) Sistema Alfa - Laval.

Su principio es bastante similar al de Lewis, diferenciándose en los aspectos siguientes: primero, el diseño del tanque es diferente, estando provisto de un filtro especial consistente en un papel hidrofóbico con prefiltros en ambas caras. Durante el tratamiento térmico de la leche el aire del tanque sale a través del filtro y durante el enfriamiento entra a través del mismo. En segundo lugar, en el sistema de Lewis la transferencia del cultivo de un contenedor a otro se realiza mediante compresión de las botellas de polietileno, mientras que en el método de Alfa - Laval se emplea aire esterilizado.

Para la propagación del cultivo madre se utilizan botellas de vidrio y para las etapas intermedias recipientes de acero inoxidable. Las botellas se cierran con juntas de caucho y tapones de rosca de metal con un espacio anular intermedio. Para la transferencia del cultivo se emplean dos jeringuillas estériles desechables. La primera se conecta a la fuente de aire y se acopla a un filtro aséptico. La segunda es lo suficientemente larga para alcanzar el fondo de la botella de vidrio y se conecta al recipiente que contiene el cultivo intermedio.

El contenedor del cultivo intermedio tiene dos dispositivos acoplados, una para la entrada de aire comprimido y otro, en forma de tubería de acero inoxidable, que conecta con el tanque del cultivo final durante la transferencia de éste. Además existen unidades especiales diseñadas para la propagación de los cultivos madre e intermedios para determinadas condiciones, conocidos como Viscubatos, los cuales están termostatizados. Permitiendo el tratamiento térmico de la leche para la siembra del cultivo, la refrigeración hasta la temperatura de incubación, el mantenimiento de la temperatura óptima durante la incubación y finalmente el enfriamiento del cultivo a temperaturas inferiores a 10 °C hasta su utilización. Ver figura 8.

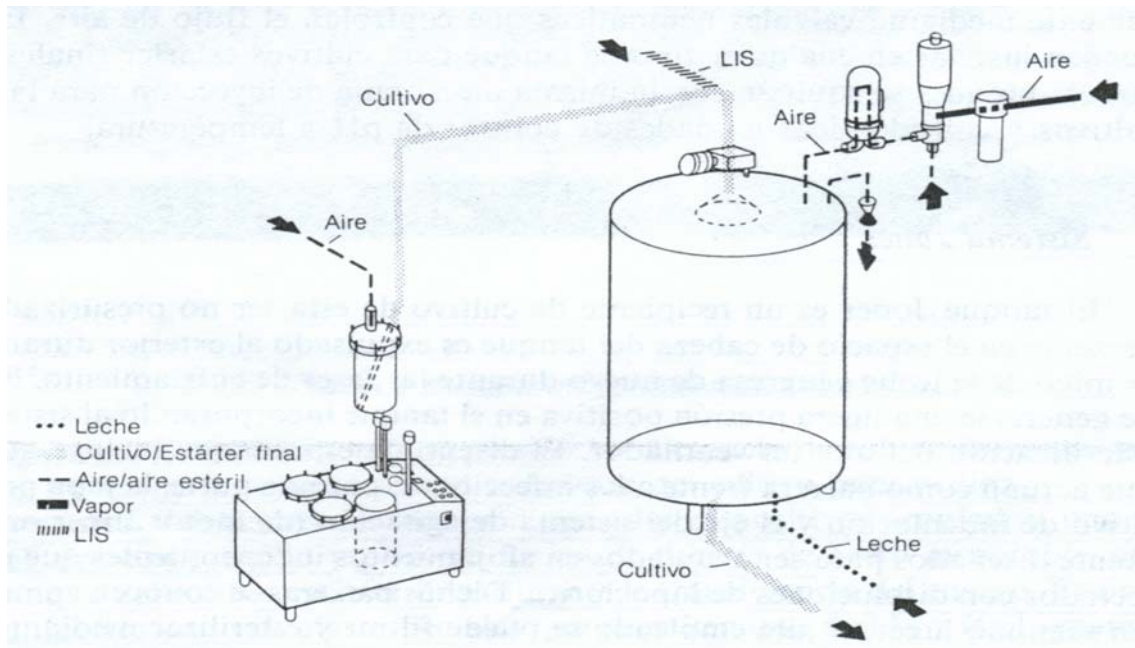


Figura 8. Sistema Alfa-Laval

c) Sistema de Jones.

El tanque Jones es un recipiente de cultivo del cultivo no presurizado, ya que el aire presente en el espacio de cabeza del tanque es expulsado al exterior durante el tratamiento térmico de la leche e ingresa de nuevo durante la fase de enfriado. El diseño de este tanque incluye algunos elementos que actúan como barrera frente a las infecciones; por una parte, la tapa principal, el dispositivo de incubación y el eje del sistema de agitación, están especialmente diseñados para ser acoplados en alojamientos independientes que pueden ser desinfectados con disoluciones de hipoclorito. En segundo lugar, el aire empleado se filtra y esteriliza mediante un filtro bacteriano o, alternativamente, combinando la acción del calor y la utilización de lana de algodón no absorbente. La unidad de filtración funciona continuamente durante el tratamiento térmico de la leche, la fase de incubación y el enfriamiento del cultivo, asegurando así la esterilidad del aire que entra en todo momento, ver la figura 9.

El sistema de inoculación, que también tiene acoplado un cierre de agua, se localiza en la parte superior del tanque y el procedimiento de siembra es el siguiente:

- a) Se crea un <anillo de fuego> u otra fuente de calor alrededor de dispositivo de inoculación
- b) Se retira la tapa.
- c) Se vierte en el interior del tanque el cultivo intermedio.
- d) Se cierra de nuevo la tapa.
- e) Se suprime el "anillo de fuego".

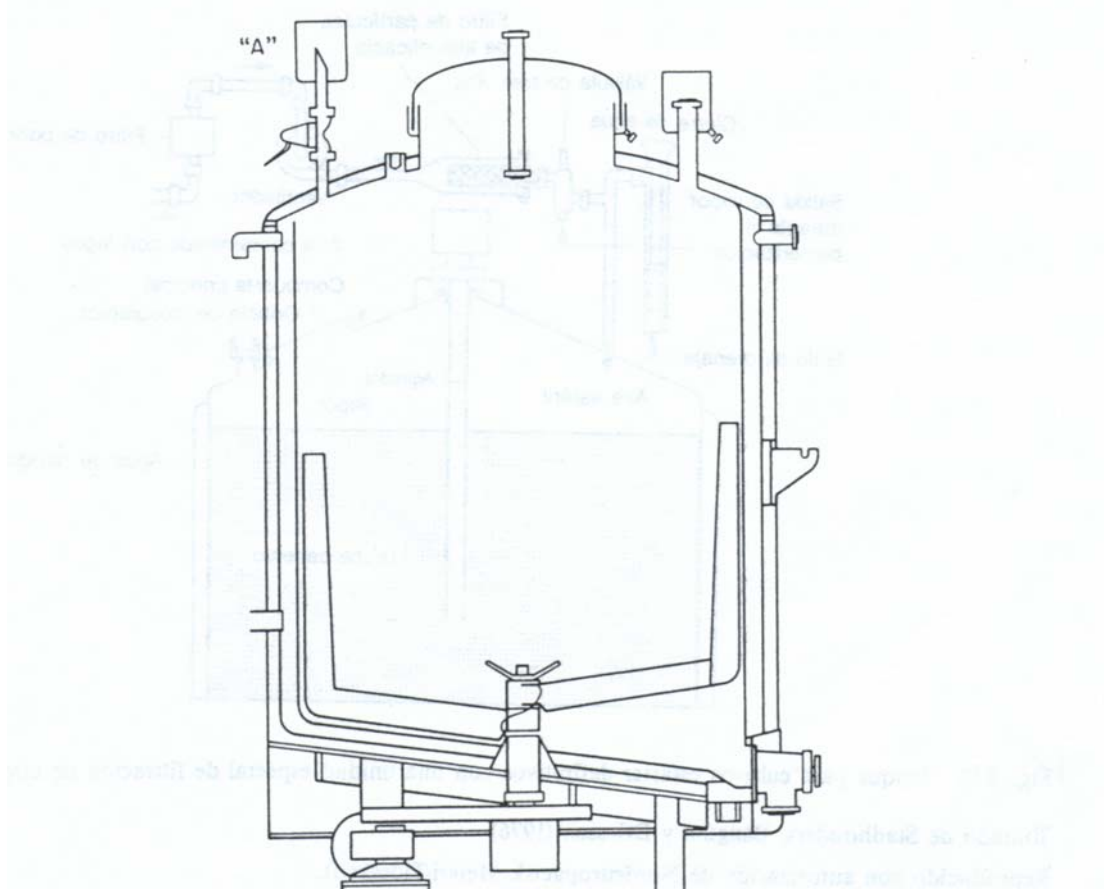
En los últimos años los mayores avances logrados en su diseño han sido: la sustitución del agitador con el motor en la tapa por un sistema de agitación de fondo, lo que reduce el número de cierres de agua necesarios en la parte superior y la modificación del dispositivo de inoculación. En resumen, el nuevo sistema de transferencia de cultivos incluye las siguientes etapas:

- (a) El cultivo intermedio se prepara por el método tradicional, pero se acopla un cierre Astell al recipiente y el extremo de la conducción de acero inoxidable se cierra con un diafragma elástico.
- (b) Durante la inoculación del cultivo iniciador definitivo, el recipiente que contiene el cultivo intermedio se vuelca, inyectando este a través de una fina cánula sumergida en una disolución de hipoclorito.
- (c) En el momento en que se rompe el diafragma se abre la válvula de entrada al tanque, permitiendo la inoculación del cultivo.
- (d) Por último, la válvula se cierra y se retira el contenedor del cultivo intermedio. Durante este proceso no se ponen en contacto con el aire ni la vía de inoculación, ni el cultivo activo, por lo que se elimina cualquier posibilidad de contaminación por aire durante la inoculación.

Figura 9. Esquema de un tanque de Jones

4.7.4.2. Método PRM/PIM.

La proliferación de los fagos en los cultivos iniciadores lácticos depende de la presencia de iones calcio libres y del medio de crecimiento. Reiter (1956)



observó que los fagos que atacan a los estreptococos lácticos se inhibían en un medio de leche carente de calcio; se le denominó “medio resistente a los fagos” (PRM) aunque, a veces, también se le llama “medio inhibidor de fagos” (PIM). Hargrove (1959) utilizó fosfato para quelar los iones calcio libres de la leche desnatada utilizada como medio de cultivo. Desde 1960 se han realizado grandes avances en la composición de los PRM/PIM y los que actualmente se encuentran en el mercado constan, en esencia, de sólidos lácteos, azúcar, factores estimulantes del crecimiento y agentes con capacidad tampón, es decir, fosfatos y citratos. Sin embargo, la eficacia de los PRM/PIM en la protección y estimulación de los cultivos iniciadores es limitada. (Robinson, 1987).

5. PREBIÓTICOS

5.1. Introducción.

En los últimos años ha crecido el interés por la idea de que cierto tipo de fibras pueden estimular durante su fermentación, el crecimiento de ciertas bacterias intestinales, por lo que podrían incluirse dentro de los alimentos que consideramos con efectos prebióticos. De hecho, recientes estudios a nivel experimental han llamado la atención sobre el papel estimulante de la inulina y

los fructooligosacáridos (FOS) sobre la producción de bifidobacterias. En voluntarios sanos la suplementación de una dieta controlada con 15 g/día, de inulina o FOS durante 15 días, produce un incremento significativo de bifidobacterias en heces, mientras disminuye la producción de bacteroides, clostridium y fusobacterias (García y cols., 2002).

Al igual que el término fibra, la clasificación de la misma está en pleno debate. Según la definición, podríamos incluir en este apartado a los polisacáridos no almidonados, la inulina, los FOS, almidón resistente y la lignina. La inulina es un fructano, con un grado de polimerización de 2 a 60 ó más. Los FOS se diferencian de la inulina, solo por la longitud de la cadena (2 a 20). La estricta definición de oligosacárido incluye una cadena con un grado de polimerización de 3 a 8 ó 3 a 10. Tanto la inulina con los FOS se ha demostrado que resisten las enzimas digestivas humanas y se fermentan en el colon. Propiedades éstas similares a las de las fibras ya conocidas y que se han demostrado mediante test enzimáticos *in vitro* (García y col, 2002).

Los prebióticos son sustancias que se encuentran en alimentos como "el trigo, ajo, duraznos, y vegetales comunes como la cebolla, cambur, remolacha y alcachofas" (Duncan Hamisch y Bornet Francis Conferencistas ESPEN, NIZA: 1998). Cuando comemos alimentos ricos en prebióticos, éstas sustancias se fermentan a nivel del cólon o intestino grueso, produciendo ácidos grasos de cadena corta que son el "alimento" preferido de las células del intestino grueso (colonocitos) para mantenerse saludable (Baha y Deen Krog, 2004).

5.2. Definición

De acuerdo con la definición introducida por Gibson y Roberfroid (1995), los prebióticos son todos aquellos "*ingredientes alimenticios no digeribles que afectan benéficamente al huésped por estimular selectivamente el crecimiento y actividad de una o un grupo limitado de bacterias en el cólon, mejorando así la salud del huésped*".

5.3. Características.

Para que un alimento o compuesto de éste se considere como prebiótico debe escapar a la digestión tracto gastrointestinal superior, alcanzando el intestino grueso y sea usado selectivamente por un grupo restringido de microorganismos. Los ingredientes de alimentos muy probablemente para resolver estos criterios incluyen actualmente los oligosacáridos, inulinas y sus derivados, los fructooligosacáridos (cuadro 5). Estos carbohidratos de bajo peso molecular se encuentran naturalmente en las alcachofas, cebollas, achicoria, ajo, puerros y en un grado inferior en cereales. Otros oligosacáridos tales como rafinosa y estaquiosa son los carbohidratos principales en habas y guisantes. Estas moléculas simples se pueden también producir industrialmente, y un número de nuevos prebióticos potenciales se está desarrollando para este mercado (Macfarlane y Cummings; 1999). Otro prebiótico que se encuentra en el horizonte del estudio, es el manooligosacárido. Hasta ahora ha sido probado únicamente en animales (Rosado y Ordanza, 2004)

Torres (2002) y García (2000), sin embargo, mencionan que, existen otros compuestos, como la proteína de la leche lactoferrina o lactotransferrina, que estimulan el desarrollo selectivo de bacterias probióticas en el tracto gastrointestinal, lo cual ha llevado recientemente a definir a esta proteína como un prebiótico, ampliando así el horizonte de estos compuestos funcionales más allá de los carbohidratos; aunque, los mecanismos por los cuales esta proteína estimula el predominio de bacterias probióticas sobre las otras bacterias indeseables en el tracto intestinal, es diferente al de los oligosacáridos.

Cuadro 5 Composición química y características de carbohidratos candidatos a prebióticos.

Oligosacáridos(ejemplos)	Composición Química
Fructooligosacáridos (rafinosa P95)	95% oligosacáridos B (2-1) fructano; 60% glucosa, fuctosa; 40% fructosa dp 2-8;
Inulina	> 99% oligosacáridos B (2-1) fructano; average dp 10-12
Galactooligosacáridos	Oligolactosa 85%, pequeñas cantidades de glucosa, galactosa y lactosa.
Oligosacáridos de la Soya	Estaquiosa (fructosa, galactosa, galactosa, glucosa) y Rafinosa (fructosa, galactosa, glucosa) dp 3-4

Xilooligosacaridos	B (1-4) xylosa; 70% puro; dp de fracción de oligosacaridos 2-4
Isomaltooligosacaridos	Mezcla de α (1-6) oligomeros de glucosa (isomaltosa, panosa, isomaltotriosa)
Lactulosa	Disacaridos conteniendo galactosa y fructosa

En sentido estricto, sólo los fructanos tipo inulina, que están presentes de forma natural en algunas plantas (raíces de ajos, cebollas, achicoria, entre otras), o son usados por la industria alimentaria (como sustitutivos de grasas, azúcares o como fibra dietética) se deben considerar suficientemente estudiados en humanos para poder ser reconocidos como prebióticos (Del Moral y col , 2003).

5.4. CRITERIOS DE SELECCIÓN

García y col (2002), en este sentido definen los criterios de selección para un prebiótico, los cuales serán:

1. Resistencia a la digestión en intestino delgado.
2. Hidrólisis y fermentación por la microflora colónica.
3. Estimulación selectiva del crecimiento de bacterias en el cólon.

Rosado y Ordanza (2004), coinciden con los criterios de selección de García y cols, pero ellos agregan un punto más que es el siguiente:

4. Inducir efectos sistémicos o lumbales que sean benéficos a la salud del huésped

5.5. MECANISMOS DE ACCIÓN

Gibson y Roberfroid (1995), mencionan como mecanismos de acción lo siguiente:

- a) Los prebióticos pueden modular perceptiblemente la microflora colónica aumentando el número de bacterias específicas y así cambiar la composición de la microflora.
- b) Por otra parte, los prebióticos pueden modular el metabolismo de los lípidos, muy probablemente vía productos de la fermentación.

Del Moral y col (2003) coinciden con Partamian (2004), al mencionar que la fermentación de los prebióticos puede promover algunas funciones fisiológicas específicas a través de la liberación de metabolitos por las bacterias, en especial los ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato, butirato, lactato, etc.) al lumen intestinal. Los ácidos de cadena corta pueden actuar directa o indirectamente (mediante la modificación del pH) sobre las células intestinales y pueden participar en el control de varios procesos como la proliferación mucosal, la inflamación, la carcinogénesis colorectal, la absorción de minerales y la eliminación de compuestos nitrogenados.

En el portal www.medicina21.com (2004), enumeran los efectos beneficiosos ocasionados por los oligosacáridos los cuales son:

- a) Previenen el estreñimiento.
- b) Previenen la diarrea.
- c) Reducen la presión sanguínea.
- d) Reducen el colesterol sérico.
- e) Producen ácidos grasos de cadena corta.
- f) Promueven la biodisponibilidad mineral y mineralización ósea.
- g) Confieren propiedades protectoras frente a cáncer colo-rectal.

5.6. APLICACIONES

5.6.1. Modificación de la microflora.

García (2000), dice que los prebióticos modifican la composición de la microflora colónica de tal manera que unas cuantas bacterias capaces de

promover beneficios a la salud del huésped se vuelven predominantes en número; estas bacterias son especialmente de los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Estudios *in vivo* en humanos han demostrado que esta fermentación estimula selectivamente el crecimiento de estas poblaciones en el cólon (Robertfroid, 1999; Salminen *et al*, 1998b). En estudios realizados *in vitro* se ha demostrado también que los fructooligosacáridos estimulan el crecimiento selectivo de bifidobacterias y lactobacilos en cultivo continuo inoculado con heces humanas (Sghir *et al*. 1998). De igual forma, en el laboratorio del autor se ha demostrado el crecimiento de las bacterias probióticas aisladas de leches fermentadas de las especies de *Lb. rhambnosus*, *Lb. casei* y *Lb. acidophilus*, en un medio que contenía como único carbohidrato fructooligosacaridos comerciales de 10 unidades de fructosa.

5.6.2. Metabolismo de lípidos.

Pocos estudios se han dedicado a la relación entre la ingesta de prebióticos tipo fructanos y los lípidos séricos en humanos. Parece, sin embargo, que los efectos de los prebióticos sobre los lípidos en humanos son inconsistentes, con resultados positivos y negativos obtenidos a partir de un pequeño número de estudios bien diseñados (del Moral y cols, 2003).

Del Moral y cols. (2003), mencionan que la degradación de los prebióticos en el intestino conduce a la producción de ácidos grasos de cadena corta en cantidades importantes principalmente acetato, propionato y butirato, los cuales son absorbidos totalmente en el tracto intestinal. Mientras que el butirato es metabolizado por los enterocitos, el acetato y el propionato alcanzan intactos el hígado a través de la vena porta. Una vez que el acetato entra en el hepatocito se activa la enzima acetil-coenzima A sintetasa 2 citosólica y queda incorporado a los procesos de colesterogénesis y lipogénesis. Este hecho se ha propuesto como la base del efecto hipocolesterolemiantes de algunos hidratos de carbono no digeribles, como la lactulosa, cuya fermentación en el cólon resulta en un aumento de la producción de acetato, pero no de propionato. De forma contraria, el propionato es un inhibidor competitivo de la

proteína que se encarga de la entrada de acetato a la célula hepática, un fenómeno que contribuye a la disminución de la lipogénesis y colesterogénesis, al menos *in vitro* en hepatocitos de rata. La producción de altas concentraciones de propionato, mediante fermentación, se ha propuesto como un mecanismo que explicaría la disminución de los niveles séricos y hepáticos de colesterol en ratas alimentadas con almidones resistentes o fructanos. Por tanto, parece que el proceso de fermentación de los prebióticos, principalmente el cociente acetato-propionato que alcance el hígado, es un marcador intermedio, que puede ser usado como predictor de las propiedades hipolipemiantes de los prebióticos y de los hidratos de carbono no digeribles fermentables.

Jackson y col. (1999), reportaron que en 54 personas (hombres y mujeres) con hipercolesterolemia al ingerir 20 g/día de inulina redujo significativamente los triacilglicéridos en 40 mg/dl, esto ya se había observado antes en pacientes moderadamente hiperlipidémicos que recibieron 9 g/día de inulina.

5.6.3. Cáncer de colon.

Aunque los mecanismos exactos por los cuales la oligofruktosa y la inulina inhiben las lesiones preneoplásticas del colon no se entienden totalmente, es probable que los efectos de estos agentes puedan implicar la modulación de la microflora (Gibson y Roberfroid, 1995; Gibson et al, 1995) en el colon. Los estudios *in vitro* demostraron que la incubación de cultivos bacterianos fecales con oligofruktosa e inulina estimuló selectivamente el crecimiento de bifidobacterias mientras que mantenía a *Escherichia Coli* y *Clostridium* en los niveles más bajos (Wang y Gibson, 1993). Además de la modulación selectiva de bifidobacterias, la oligofruktosa y la inulina aumentan la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) dentro de la fermentación microbiana, especialmente butirato, en el colon (Gibson y Roberfroid, 1995). Aunque la producción de butirato es ~5% de AGCC total, es de interés particular porque inhibe la proliferación de un gran número de células diferentes *in vitro* e induce un fenotipo distinguido (Reddy, 1999).

Fabrice y cols. (1997), encontraron al incluir en la dieta de ratones, fructooligosacaridos de cadena corta, una reducción significativa del número de tumores en cólon con respecto al grupo control alimentado con una dieta basal sin fructooligosacaridos. Sus experimentos mostraron que el consumo de fructooligosacaridos de cadena corta contrarresta la carcinogénesis del colon en etapas avanzadas, posiblemente a través de la estimulación de la inmunidad antitumoral al modular el ecosistema colónico. El hecho de que este efecto protector fué obtenido en el cólon y no en el intestino delgado sugiere que los eventos se llevaron a cabo específicamente en el cólon, debido aparentemente a una estimulación sobre la población de bifidobacteria (González y Azaola, 1997).

5.6.4. Absorción de Calcio

La fibra puede transportar minerales hasta el intestino grueso, de modo que favorece que partículas de calcio lleguen al colon, donde es absorbido, de modo que este elemento no nutritivo reduce el riesgo de que los huesos pierdan su densidad (osteoporosis) (Partamian, 2004).

Van den Heuvel (2000), menciona que la fermentación colónica de oligosacaridos no digeribles (OND) conduce a la formación de elevadas concentraciones de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) y de la presencia de Ca^{+2} y Mg^{+2} en el lumen colónico. También menciona que la absorción intestinal de calcio procede por dos mecanismos, un proceso trans-celular activo y un proceso para-celular pasivo (Bronner, 1998). Ambos mecanismos pueden ser afectados por OND de varias maneras, es decir hipertrofia de la pared cecal y una mayor área superficial, un incremento del calcio soluble debido a la fermentación y un flujo acelerado de la sangre (Chonan y Watanuki, 1995; Younes et al, 1996). Además de estos factores causales, se ha presumido que los OND estimulan la absorción trans-celular de calcio por un efecto directo de los AGCC producidos. Éste efecto posiblemente implica un intercambio de H^+ intracelular presente en el cólon distal por Ca^+ (Lutz et al, 1991; Trinidad, 1996).

Chonan y Watanuki (1995), mencionan que se examinó, la absorción de calcio en ratas masculinas por 10 días, observándose que la absorción de calcio y los cocientes de retención eran perceptiblemente más altos en las ratas alimentadas con una dieta que contenía galactooligosacáridos (GOS) (5 ó 10g/100g de la dieta). En un segundo estudio o experimento, el intestino fue ligado in situ y la absorción de calcio en el intestino grueso fue observada después de inyectar GOS en el lumen cecal. Cuatro horas después de la inyección, la concentración de calcio en la vena cecal de las ratas alimentadas con (GOS) era perceptiblemente más alta que la del grupo control.

En un estudio con mujeres postmenopáusicas, una absorción creciente de calcio fue observada después de consumir un producto rico en FOS (Elixor) comparado con el alimento de referencia. La absorción de calcio no fué acompañada por una excreción elevada de calcio en la orina, implicando que los FOS también pueden aumentar la retención de calcio en los huesos e inhibir la descalcificación del mismo (Van den Heuvel, 2000).

5.7. OBTENCIÓN DE PREBIÓTICOS

5.7.1. Inulina.

La inulina es un polisacárido que se puede extraer de plantas de distintas familias *Liliaceae*, *Amaryllidaceae*, *Gramineae* y *Compositae*, aunque la principal fuente de inulina es la achicoria (*Cichorium intybus*). De esta planta se obtiene un polisacárido complejo [β -D-glucopyranosil-(β -D-fructofuranosyl) n-1 α -D-fructofuranósido], con un número de fructosas comprendidas entre 2 y 70. La inulina nativa es procesada en la industria alimentaria y transformada en fructanos (fructooligosacáridos ó FOS) de cadena corta con un grado de polimerización entre 2 y 10 (normalmente 5) como resultado de la hidrólisis enzimática parcial por la inulinasa. Otros prebióticos son los galactooligosacáridos obtenidos por síntesis química a partir de lactosa, los oligosacáridos extraídos de semilla de soya y los xilo-oligosacáridos, obtenidos

por hidrólisis química de xilanos y polidextrosas o pirodextrinas (Ferrer y Dalmau, 2003).

Niness (1999), describe el proceso de fabricación de inulina, el cual, es algo similar al del azúcar extraído de las remolachas. Las raíces son cosechadas, se rebanan y se lavan típicamente. La inulina después es extraída de la raíz usando un proceso de difusión de agua caliente, después purificada y secada. El producto que resulta tiene un grado de polimerización medio (DP)₂ de 10-12 y una distribución de moléculas con una longitud de cadena de 2-60 unidades. El polvo resultante de inulina contiene un 6-10% de azúcares representados por glucosa, fructosa y sucrosa. Éstos son nativos de la raíz de achicoria, no se agregan después de la extracción.

5.7.2. Oligofructosa.

La oligofructosa se deriva de la achicoria de la misma manera que la inulina. La diferencia principal es la adición de un paso en la hidrólisis después de la extracción. También se puede sintetizar de la sacarosa por transfructosidación, que se logra por medio de una enzima, la α -fructofuranosidasa. Los fructanos formados de este modo contienen de 2-4 unidades de fructosa ligadas a una glucosa terminal (Niness, 1999).

Martínez y col (2002), dentro de un estudio de laboratorio describen la forma de obtención de oligofructanos del aguamiel de pencas de agave pulquero. La muestra se filtró y se pasteurizó a 85°C/15 minutos. Se cuantifican azúcares totales, directos, fructosa total y glucosa libre. Para la cuantificación de oligofructanos, debido a que se emplea una inulinasa que hidroliza tanto a la sacarosa como a los polifruktanos, primero se hidroliza con una invertasa (para hidrolizar la sacarosa presente) y posteriormente con la inulinasa.

5.7.3. Lactulosa.

Durante el calentamiento de la leche, particularmente en procesos que implican tratamientos térmicos más severos como en la ultrapasteurización o

la pasteurización de la leche para la producción del yogurt, se produce una transformación química de la lactosa (disacárido formado por galactosa y glucosa), donde la molécula de glucosa se isomeriza para formar fructosa, produciéndose así un disacárido indigerible formado por galactosa y fructosa, conocido como lactulosa, el cual tiene efecto importante como prebiótico. La concentración de lactulosa en leches ultrapasteurizadas fluctúa entre 5 y 75 mg/100 ml, mientras que en leches pasteurizadas está entre 4 y 15 mg/100 ml y en leches en polvo alrededor de 17mg/100 g (Torres, 2002).

5.7.4. Galactooligosacáridos.

Los procesos para la producción de galactooligosacáridos tienen la gran ventaja de contar con un substrato barato y ampliamente disponible en grandes volúmenes, que es la lactosa del suero de la leche. Para utilizar la lactosa del suero de la leche para producir galactooligosacáridos mediante una reacción enzimática, es necesario encontrar las condiciones adecuadas que favorezcan la reacción de transglicosidación sobre la hidrólisis. Si bien, se ha demostrado que todas las lactasas utilizadas comercialmente para la hidrólisis de lactosa en leche presentan reacciones de transglicosidación para la formación de oligosacáridos (García-Garibay et al,1993; García-Garibay y Gómez-Ruiz, 1996), existen algunas que tienen una mayor tendencia en este sentido, utilizando más fácilmente a la propia lactosa como aceptor del grupo galactosilo (García-Garibay y Gómez-Ruiz, 1996). Para esto se han explorado nuevas fuentes de β -galactosidasas, como la de *Bacillus circulans*, la cual tiene una extraordinaria tendencia a la formación de oligogalactósidos (García; 2000).

En la naturaleza, los FOS son producidos a partir de sacarosa por la acción de la fructosyltransferasa en un restringido número de microorganismos y plantas. Para propósitos comerciales, los FOS son producidos mediante la inoculación de sacarosa con células del hongo (*G. diazotrophicus*) inmovilizadas expresando fructosyltransferasas, donde ésta convierte la sacarosa a 1-kestosa con una escasa producción de levano. También se pueden obtener FOS mediante hidrólisis parcial de las inulinas de plantas. Ambos procesos son altamente costosos (<http://gndp.cigb.edu.cu>, 2004).

CONCLUSIONES

Después de una extensa revisión de literatura y haber hecho un análisis de la misma, puedo concluir lo siguiente:

Los alimentos que contienen algún tipo de bacterias ácido lácticas, bifidobacterias y/o levaduras tienen la capacidad de ayudar a contrarrestar ciertos tipos de enfermedades gastrointestinales como diarrea del viajero, diarrea asociada a los antibióticos, entre otras, además de ayudar a prevenirlas. También los microorganismos probióticos tienen la capacidad de estimular ciertas moléculas e Ig's del sistema inmune, lo cual ayuda a la prevención de enfermedades ocasionadas por agentes patógenos que entran al cuerpo de manera oral y algunos tipos de cánceres especialmente el de colon.

En cuanto a los alimentos prebióticos puedo mencionar que aunque tienen menos tiempo de ser investigados los resultados que han arrojado los estudios son aceptables y los podemos considerar como alimentos benéficos y que se pueden considerar como una alternativa de alimentación.

Para terminar quiero añadir que aunque hay un avance significativo dentro del estudio de estos alimentos todavía queda mucho trabajo por realizar. Ya que se sigue estudiando para que otras enfermedades pueden servir estos alimentos, además de afinar o definir en algunos casos, el modo de acción de éstos para mejorar la salud.

BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. **ADACHI**, Susumo. Lactic Acid Bacteria and the Control of Tumores. En: WOOD, Brian. The lactic acid bacteria VOL. 1 the lactic acid bacteria in health and disease. Londres Inglaterra y New York E.U.A. Elsevier Applied Science. 1992. Pp 233-261.
2. **ADAMS**, M. R. y Moss M. O. Microbiología de los Alimentos. Zaragoza, España. Ed. Acribia S. A. 1997. 321 – 331pp.
3. **ADOLFSOON**, Oskar ; Meidani, N; Simin, L; Rosell, M. Yogurt and Gut Function. American Journal of Clinical Nutrition. 2004. 80; 2: 245-256
4. **ALAIS**, Charles. Ciencia de la Leche (Principios de Técnicas Lecheras). Barcelona, España 1970.
5. **ALCALDE**, Esteban; García Alicia y Sánchez Esther. Los Nuevos Alimentos. [en línea] Enero del 2003. [Fecha de consulta: 18 de marzo del 2004] Disponible en: www.agroterra.com/profesionales/artuculos.asp?darticulo=293
6. **ALVÍDRES**, M. Alicia y col. Tendencias de la Producción de Alimentos: Alimentos Funcionales. Revista de Salud Pública y Nutrición. 3 (3): 24 – 30 Julio – Septiembre 2002 pag. 23-30.
7. **ARAYA**, Héctor y Lutz, Mariane. Alimentos Funcionales y Salud. Rev. Chilena de Nutrición. Vol. 30, N.1. Santiago de Chile; Abril del 2003. pag 6-11.
8. **BALLABRIGA**, Angel. Probióticos en Neonatología. Revista Española de Pediatría. Vol. 21, N. 9. Barcelona, España. 1999. Pag 15-23.
9. **BARBES**, Miguel. Microbiota y Aparato Digestivo. Revista Española de Enfermedades Digestivas. Vol. 93, N.5. Madrid, España. 2001. Pag 325-327.
10. **BAHA**, Laura y Deen Krog, A. Los Prebióticos contra los Efectos Indeseables de los Antibióticos. [En línea] [Fecha de consulta: 07 de Marzo del 2004]. Disponible en: www.enbuenasmanos.com/ARTICULOS/muestra.asp?art=256.
11. **BERGER**, Abi. Probiotics: Science Comentary. British Medical Journal. 2002; 324:1364.
12. **BOURGEOIS**, C. M. y Lampert J. P. Microbiología Alimentaria Vol. 2 “Fermentaciones Alimentarias. Zaragoza, España. Ed. Acribia. 1995. pp 3-15.
13. **BRADY**, Linda; Gallagher, Daniel and Busta Frank. The Role of Probiotics Cultures in The Prevention of Colon Cancer. Journal Nutrition. 2000; 130-410.
14. **CARPENTER**, Philip L. Microbiología. 4ª Edición. México D. F. Ed. Interamericana. 1979. pp 330-343 y 355-389.

15. **CHONAN**, O and Watanuki M. Effect of Galacto – oligosaccharides on Calcium Absorption in Rats. Journal Nutrition Science. 1995; 41: 95-104.

D

16. **DANONE** Inc. “Lactose Maldigestion”. Mayo de 1993. pp 1-7

17. **DANONE** Inc “Bifidobacterias”. Enero de 1994a pp 1-4

18. **DANONE** Inc.. “Healt Benefits of Lactic Acid Bacteria”. Octubre de 1994b pp 1-8.

19. **DANONE** Inc. “Lactic Acid Bacteria”. Abril de 1995a pp 1-6.

20. **DANONE** Inc. “Fermented Milks: Effects on the Immune System”. Octubre de 1995b pp 1-7.

21. **DANONE** Inc. “Las Leches Fermentadas y la Mala Digestión de la Lactosa”. Agosto de 1996. pp 1-13.

22. **DANONE** Inc. “*Lactobacillus Acidophilus*”. Marzo de 1997a.

23. **DANONE** Inc. “The Gastrointestinal Microflora and Fermented Milks”. Mayo de 1997b. pp 1-13

24. **DANONE** Inc. “Healt Benefits of Fermented Milks and Probiotics: An Overview”. Julio de 1997c pp. 1-15

25. **DANONE** Inc “Bifidobacterias” Nobiembre de 1997d pp. 1-8

26. **DE LAS CAGIGAS**, Ada y Blanco, Jorge. Probióticos y Prebióticos una Relación Beneficiosa. Revista Cubana de Alimentación y Nutrición. 2002; 16 (1): 63-68.

27. **DEL MORAL** y Col. Efecto de los Prebióticos sobre el Metabolismo Lípidico. Revista de Nutrición Hospitalaria. 2003. 18:4; 181-188.

28. **D`SOUZA**, L. Aloysius y col. Probiotics in Prevention of Antibiotic Associated Diarrhoea: Meta-analysis. British Medical Journal. 2002;324:1361.

29. **ESQUIVEL** Flores, Guadalupe. Los Probióticos ¿Realidad o Moda?. Revista Cuadernos de Nutrición. 27 (1): 21 – 28. Enero/Febrero 2004.

30. **FERNANDES**, Custy; Chandan, R y Shahani, K. Fermented Dairy Products and Health. En: WOOD, Brian. The lactic acid bacteria VOL. 1 the lactic acid bacteria in healt and disease. Londres Inglaterra y New York E.U.A. Elsevier Applied Science. 1992. Pp 297-339.

31. **FERRER**, B. y Dalmau, J. Alimentos Funcionales: Probióticos. [En línea] Diciembre del 2003 [Fecha de Consulta: 07 de marzo del 2004]. Disponible en: www.gastroinf.com/SecciNutri/ALIMENTOS.pdf

32. **FRANCO**, M. L. Alimentos Funcionales: Aspectos científicos y regulatorios. 17° Congreso Latinoamericano de Nutrición y Dietistas [en línea]. Octubre 2002 Caracas, Venezuela. [fecha de consulta: 17 de marzo 2004]. Disponible en: <www.kelloggs-nutricion.com/dieta_salud.phtml>.
33. **FRANCO** Velázquez, Lizandro R. Establecimiento de las Condiciones para la Producción de Preparaciones Líquidas con Actividad de Probiótico. Tesis (Ing. Agronomo Zootecnista) Buenavista, Saltillo, Coah. Universidad Autonoma Agraria "Antonio Narro". 1997. pp 3-14
34. **FRAZIER**, W. C. Microbiología de los Alimentos. Zaragoza España. Ed. Acribia. 1969. pp 55-59.
35. **GALINDO**, Carmen; Magdalena Galindo y Armando Torres M. Manual de Redacción e Investigación. México D. F. Ed. Grijalbo. 1997. 365pp.
36. **GARCIA**, Mariano. Prebióticos. En: En: Simposio Mexicano de Probióticos (2°, 2000, Guadalajara, Jalisco). Memorias. Guadalajara, Jalisco. 2000. Pp 57-65
37. **GARCIA**, P. y cols. Metabolismo Colónico de la Fibra. Revista de Nutrición Hospitalaria. Vol. 17: 11-16. 2002.
38. **GILLILAND**, Stanley E. Fermented Milks and Probiotics. En: Simposio Mexicano de Probióticos (2°, 2000, Guadalajara, Jalisco). Memorias. Guadalajara, Jalisco. 2000. Pp 37-49.
39. **GONZALEZ**, Rina y Azaola, Alejandro. Bifidobacterium como Probiótico. En: Simposio Mexicano sobre Probióticos (1°,1997, Ciudad Universitaria, D.F.). Memorias. Cd. Universitaria, D.F. 1997. Pag 99-108.
40. **HAVENAAR**, Robert y Huis in't Veld, Jos H. Probiotics: A General View. En: WOOD, Brian. The lactic acid bacteria VOL. 1 the lactic acid bacteria in healt and disease. Londres Inglaterra y New York E.U.A. Elsevier Applied Science. 1992. Pp 151-170.
41. **JACKSON**, K.; Taylor, R.; Clohessy, M. y Williams, M. The Effect of the Dairy Intake of Inulini on Fasting Lipid, Insulin and Glucose Concentrations in Middle-Aged Men and Woman. British Journal Nutrition. 1999; 82:23-30.
42. **KATO**, Ikuo. Immunopotentiating Action of *Lactobacillus*. En: Yakult Honsha; Special 20th Anniversary Edition of Healthist. Intestinal Flora and Immunity: Intestinal Infection, Allergies and Cancer. 1997. pp 60-66
43. **KIMOTO**, H.; Ohmomo, S. Y Okatomo, T. Cholesterol Removal From Media by Lactococci. J. Dairy Sci. 2002; 85:3182-3188.
44. **KUDOH**, Yasuo. Trends and Changes in Gastrointestinal Infections in Japan. En: Yakult Honsha; Special 20th Anniversary Edition of Healthist.

Intestinal Flora and Immunity: Intestinal Infection, Allergies and Cancer. 1997. pp 99-109

45. **LEE**, Byong H. Fundamentos de Biotecnología de los Alimentos. Zaragoza España. Ed. Acribia. 2000. pp 239-243

46. **MACFARLANE**, George y Cummings John. Probiotics and Prebiotics: Can Regulation the Activities of Intestinal Bacteria Benefit Health?. British Medical Journal 1999; 318: 999 – 1003.

47. **MAGUINA** Vargas, Ciro y Barrionuevo, Leslie. Actualización en Probióticos. Revista Peruana de la Sociedad Medica Internacional. Vol. 15, N.3. Lima, Peru. 2002. Pag 1-11.

48. **MARINÉ**, Abel. Alimentos Funcionales. [en línea] Septiembre del 2001 [Fecha de consulta: 18 de marzo del 2004] Disponible en: www.recolectos.es/dm/grandeshits/marine.html

49. **MARQUINA**, Domingo y Santos, Antonio. Probióticos, Prebióticos y Salud. [en línea] Marzo del 2002 [fecha de consulta: 7 de marzo del 2004] Disponible en: www.semico.es/Actualidad/SEM32-24.pdf

50. **MARTINEZ**, Gabriela; Cruz, Alma; Gómez, Lorena y García, Mariano. Caracterización Enzimática de Oligofruktanos con Potencial Prebiótico Presentes en Aguamiel. En: Simposio Mexicano de Probióticos (2º, 2000, Guadalajara, Jalisco). Memorias. Guadalajara, Jalisco. 2000. Pp 105

51. **MATSUOKA**, Yoshiaqui. Immunomodulating Effect of *Lactobacillus casei* Strain *Shirota* and Resistance to Tumors. En: Simposio Mexicano de Probióticos (2º, 2000, Guadalajara, Jalisco). Memorias. Guadalajara, Jalisco. 2000. Pp 95-97.

52. **MITSUOKA**, Tomotari. Role of intestinal flora in health with special reference to dietary control of intestinal flora. En : NGA, B.H. y Y. K. LEE; microbiology applications in food biotechnology. Londres Inglaterra y New York E.U.A.Ed. Elsevier Applied Science. 1990. 135 – 148 pp.

53. **MITSUOKA**, Tomotari. The Human Gastrointestinal Trac. En: WOOD, Brian. The lactic acid bacteria VOL. 1 the lactic acid bacteria in healt and disease. Londres Inglaterra y New York E.U.A. Elservier Applied Science. 1992. 69 – 114 pp.

54. **NINESS**, Kathy R. Inulin and Oligofruktosa: What are they?. Journal Nutrition. 1999; 129:1402

55. **PARTAMIAN**, Lorena. Prebióticos. [En línea] [Fecha de consulta: 07 de Marzo de 2004]. Disponible en: www.nutrar.com/detalle.asp?ID=1846.

56. **PATTACINI**, Ana. Alimentos Funcionales: Probióticos. [en línea] [fecha de consulta: 16/marzo/2004]. Disponible en: www.nutrar.com/detalle.asp?ID=569

57. **PERDIGON**, G.; Alvarez, S.; Rachid, M.; Agüero, G. y Gobbato, N. Immune System Stimulation by Probiotics. *J. Dairy Sci.* 1995. 78: 1597-1606.
58. **PERDIGON**, G.; Vintini, E.; Alvarez, S.; Medina, M. y Medici, M. Study of the Possible Mechanisms Involved in the Mucosal Immune System Activation by Lactic Acid Bacteria. *J. Dairy Sci.* 1999. 82: 1108-1114.
59. **PONTIFICA** Universidad Católica de Chile. Guía para la Redacción de Citas Bibliográficas, Enero del 2001.
60. **PRESCOTT**, Lansing y col. *Microbiología*. 4ª Edición. Madrid España. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana. 1999. pp 626-636.
61. **REBOLLOSO** Padilla, Oscar N. Probióticos. Trabajos Escolares "Textos Ineditos". Depto. de Producción Animal. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". 1998. Pag. 1-10.
62. **REBOLLOSO** Padilla, Oscar N. Probióticos y Prebióticos. Trabajos Escolares "Textos Ineditos". Depto. de Producción Animal. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". 2000. pag1-3
63. **REDDY**, Bandaru. Possible Mechanisms by Which Pro-and Prebiotics Influence Colon Carcinogenesis and Tumor Growth. *Journal Nutrition*. 1999; 129:1478.
64. **ROBINSON**, R. K. *Microbiología Lactológica Vol. 2 Microbiología de los Productos Lácteos*. Zaragoza, España. Ed. Acribia. 1987 pp 105-140.
65. **ROSADO**, Jorge L. Yogurt como Fuente Autodigerible de Lactosa. En: Simposio Mexicano sobre Probióticos (1º, 1997, Ciudad Universitaria, D.F.). Memorias. Cd. Universitaria, D.F. 1997. Pag 83-91.
66. **ROSADO**, Jorge L. y Ordanza, Mauricio. Prebióticos y Probióticos: Efectos e Implicaciones en la Fisiología de la Nutrición. [en línea] 6 de junio del 2004 [Fecha de consulta: 26 de junio del 2004] Disponible en: www.paginadigital.ar/articulos/2004/2004seg/tecnologia5/vis30gg-5pl.asp
67. **SALMINEN**, Seppo. Clinical Application of Probiotics and Intestinal Microflora Modification. En: Simposio Mexicano de Probióticos (2º, 2000, Guadalajara, Jalisco). Memorias. Guadalajara, Jalisco. 2000. Pp 9-14.
68. **SANCHEZ** Abundez, Hugo F. Desarrollo y Evaluación de una Bebida Refrescante Fermentada Elaborada a Base de Suero Dulce de Quesería. Tesis (Ing. Ciencia y Tecnología de Alimentos) Buenavista, Saltillo, Coah. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". 2002. 14 - 24.
69. **SANDERS**, Mary E. Considerations for Use of Probiotics Bacteria to Modulate Human Health. *Journal Nutrition*; 2000. 130:384

70. **SARRA**, P. G.; Morrlli, L y Bottazzi, V. The Lactic Microflora of Fowl. En: WOOD, Brian. The lactic acid bacteria VOL. 1 the lactic acid bacteria in health and disease. Londres Inglaterra y New York E.U.A. Elsevier Applied Science. 1992. Pp 3-19.
71. **SAVAIANO**, D. A. y Levitt, M. Milk Intolerance and Microbe-Containing Dairy Foods. J. Dairy Sci. 1987. 70:397.
72. **SCHAAFMA**, G. State of the Art Concerning Probiotic Strains in Milk Products. IDF Nutr. News. 1996. 5:23-26.
73. **SCHIAPPACASE**, Eduardo y Frers, Cristian. Las Cualidades de los Alimentos Funcionales [en línea] julio del 2003 [fecha de consulta: 18 de marzo del 2004] Disponible en: www.revistainterforum.com/español/articulos/072703Naturalmente-alimentos.html.
74. **SEDÓ**, M. Patricia. Alimentos Funcionales: análisis general acerca de las características químico-nutricional, desarrollo industrial. Revista Costarricense de Salud Pública. [en línea]. Julio 2001. vol 10 num 2 [fecha de consulta: 28 de marzo 2004]. Disponible en: www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=51409-14292-01000100005&lng=en&nm=iso&tlng=es
75. **TANAGUCHI**, Masaru. Mysteries of the Immune System. En: Yakult Honsha; Special 20th Anniversary Edition of Healthist. Intestinal Flora and Immunity: Intestinal Infection, Allergies and Cancer. 1997. pp 45-51.
76. **TAMIME**, A. Y. y Robinson, R. K. Yogurt Ciencia y Tecnología. Zaragoza, España. Editorial Acribia. 1991. pp 289-314.
77. **TARANTO**, M. P. y Cols. Effect of Lactobacillus reuteri on the Prevention of Hypercholesterolemia in mice. J. Dairy Sci. 2002. 83:401-403.
78. **TORRES** Vitela, María R. Las Bacterias lácticas y la Salud Humana. El Informador "Diario Independiente". Guadalajara, Jalisco. 10 de Octubre de 1996. Pag. C3.
79. **TORRES** Vitela, María R. Microbiología de las Bacterias con Características Probióticas. En: Simposio Mexicano de Probióticos (2º, 2000, Guadalajara, Jalisco). Memorias. Guadalajara, Jalisco. 2000. Pp 17-25.
80. **TORRES** Vitela, María R. Flora Intestinal, Probióticos y Salud. 2ª Edición. Guadalajara, Jalisco, México. 2002. 118p
81. **VAN DEN HEUVEL**, Ellen G.; Schotermen, Margriet and Muijs, Theo. Transgalactooligosaccharides Stimulate Calcium Absorption in Postmenopausal Women. Journal Nutrition. 2000; 130:2938-2942.

82. **VASCONSELLOS**, J. A. Alimentos Funcionales: Conceptos y Beneficios para la Salud. [en línea] [Fecha de consulta: 16 de marzo del 2004]. Disponible en: www.worldfoodscience.org/vol13/feature1-3a.html
83. **WWW.IFIC.ORG** Alimentos Funcionales. [En línea] [Fecha de consulta: 16 de marzo del 2004] Disponible en: www.ific.org/sp/nutrition/funcional/index.cfm
84. www.medicina21.com/doc.php?apartat=Farmacia&id=1623. [Fecha de consulta: 16 de marzo del 2004]
85. <http://gndp.ciqb.edu.cu/Espa%F1ol/Fructooligosacaridos.htm> [Fecha de consulta: 16 de marzo del 2004]
86. www.monografias.com/trabajos/provi/provi.shtml [Fecha de consulta: 23 de abril del 2004]
87. www.consumer.es/web/es/nutricion/salud_y_alimentacion/adulto_y_vejez/2001/04/18/37145.php; [Fecha de consulta: 07 de marzo del 2004]
88. www.ua-cc.org/dieta9.jsp [Fecha de consulta: 09 de marzo del 2004]
89. **YASUI**, Hisako. Bifidobacterium and Intestinal Immunity. En: Yakult Honsha; Special 20th Anniversary Edition of Healthist. Intestinal Flora and Immunity: Intestinal Infection, Allergies and Cancer. 1997. pp 93-98.