

ALIMENTOS PROBIÓTICOS: Estado del conocimiento y perspectivas



Dr. Jorge Reinheimer

Instituto de Lactología Industrial (INLAIN)

Facultad de Ingeniería Química (FIQ)

UNL - CONICET

SANTA FE – ARGENTINA

jorreinh@fiq.unl.edu.ar



PROBIÓTICOS

Mercado en
expansión



Interés de los consumidores
en el rol de la dieta sobre el
mantenimiento de la salud

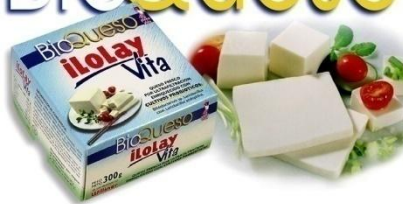


En los países desarrollados, los alimentos probióticos constituyen el 60-70% del mercado total de alimentos funcionales.



EMPLEO ACTUAL DE PROBIÓTICOS EN ALIMENTOS

BioQueso



En el mundo, la diversificación de alimentos probióticos va en aumento

Sin embargo...

○ **Qué sabemos actualmente de los probióticos?**

○ **Qué nos falta saber o definir?**



PROBIÓTICOS

Microorganismos vivos que, administrados en adecuadas dosis (como parte de un alimento), otorgan un beneficio a la salud del consumidor (FAO, 2002).



BACTERIAS USADAS COMO PROBIÓTICOS PARA HUMANOS

○ **Bifidobacterias** (*B. longum*, *B. lactis*, *B. infantis*, *B. bifidum*).

○ **Lactobacilos** (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. johnsonii*, *L. reuteri*).



Aislamiento de probióticos

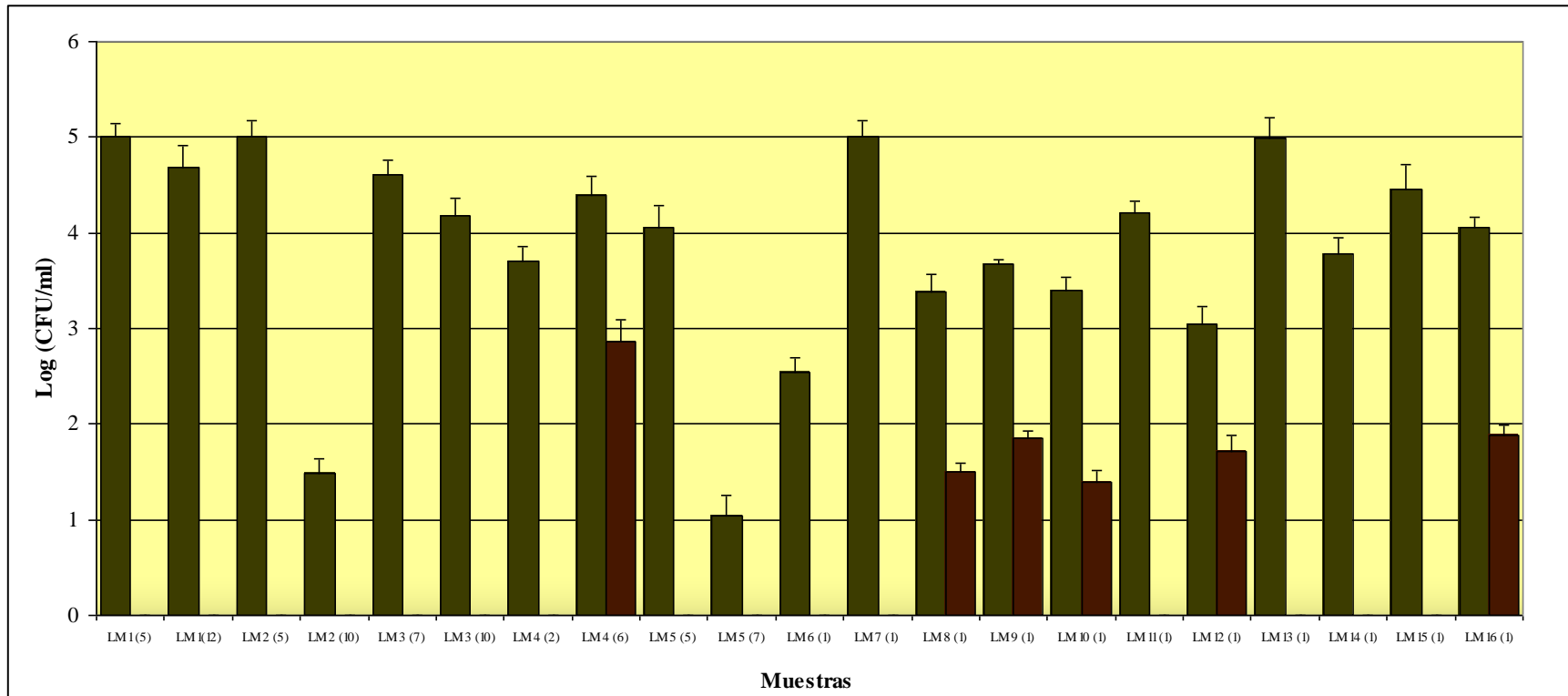
- **Tradicionalmente, de heces de infantes**



criterio en revisión

- . **De leche materna**
- . **De alimentos, etc.**

Aislamientos de bifidobacterias a partir de leche materna



Aislamiento de bifidobacterias a partir de leche materna

Aptitud tecnológica

- Resistentes a la congelación (-70°C, -20°C)
- Resistentes ácido láctico (pH 4,5-1 mes-5°C)
- Resistentes al secado spray
- Resistentes a la rehidratación hasta 50°C

Potencial probiótico

En estudio en ratones

“Naturalmente transferidas por la madre al hijo”

Potencial para el desarrollo de leche en polvo o productos lácteos fermentados.

Desarrollo comercial de leche en polvo + probióticos maternos



HEREDITUM® maternis

Hereditum® is Puleva Biotech's range of premium probiotics isolated from human breast milk and with the capacity to be transferred to breast milk after oral intake.

Besides their unique and different origin, most of the probiotic strains on the market were obtained from intestinal samples, the Hereditum® strains have been selected from hundreds of different strains by their excellent capabilities and probiotic properties, and for their scientifically proven health benefits.

- **Lactobacillus gasseri CECT5714**
 - **Lactobacillus gasseri CECT5715**
 - **Lactobacillus fermentum CECT5716**
- Hereditum® strains have been tested in human trials where they showed their capacity to colonize the human gut, their potential to regulate intestinal habits, and to stimulate defense mechanisms of the immune system.

The singular origin of Hereditum® makes them not only exceptional candidates for their use in infant nutrition, but also for several other applications in functional foods due to their excellent probiotic potential and technological versatility that ensures their maximum functionality and performance. This is the case for dairy products, fermented or not, sugar rich matrices.

Bacillus probióticos

Se usan actualmente como:

- Suplementos dietarios (humanos). Existen al menos 15 productos comercializados en el mundo.
- Promotores del desarrollo y exclusión de patógenos (animales). Existen al menos 7 productos para aves de corral, cerdos, conejos, terneros, etc.
- Acuicultura. Existen al menos 5 productos para promover el desarrollo y excluir agentes competitivos en los criaderos de camarones.
- Como aditivos alimentarios ?



Bacillus probióticos

Ventajas de su utilización:

- Los productos pueden ser mantenidos a temperatura ambiente sin afectarse la viabilidad (estabilidad de cepas).
- Los esporos superan la acidez del estómago y germinan en el intestino delgado, desarrollan y re-esporulan.

Bacillus probióticos como aditivos alimentarios



Bacillus coagulans

Tiene status GRAS (FDA, USA, 2008)

Bacillus probióticos como aditivos alimentarios



Isabella's functional muffins "Activate"



Helados



Leche fluida



Té



Barras de cereal



Pasta

IDENTIFICACIÓN DE CEPAS



Método recomendado:

secuenciación parcial del gen 16 Sr DNA



DOSIS

Criterio japonés: 10^9 células
(equivalente a 100g de un yogur que contiene 10^7 UFC/g)



CONTROL DE LA VIABILIDAD CELULAR

○ Recuentos en placas → USO PRESENTE

○ Citometría de flujo

USO FUTURO

○ PCR cuantitativa



MEDIO DE CULTIVO IDEAL

- **Capacidad de inhibir flora starter (10^8 - 10^9 UFC/ml).**
- **No inhibir la flora probiótica de interés (recuperación).**
- **Capacidad selectiva y/o diferencial (2-3 especies probióticas).**
- **Usar agentes selectivos/diferenciales de fácil manejo.**
- **Económico, rápido de preparar, estable.**



MEDIOS DE CULTIVO PARA PRODUCTOS LÁCTEOS ARGENTINOS

Table 2

Enumeration (log CFU g⁻¹ unless specified otherwise) of *L. casei*, *L. acidophilus* and Bifidobacteria on different media (3 d at 37° C). The values are the mean of three determinations^a

Microorganism	Strain	Culture medium		
		MRS	MRS-Bile ^b	MRS-LP ^b
<i>Lactobacillus casei</i> ^c	A13	10.43 ± 0.14ba	10.50 ± 0.21a	10.44 ± 0.11a
	A14 ^d	9.10 ± 0.12a	8.73 ± 0.08b	9.09 ± 0.23a
	A15	10.33 ± 0.06a	10.28 ± 0.40a	10.09 ± 0.18a
	A16	11.90 ± 0.06a	11.91 ± 0.04a	11.91 ± 0.07a
	LS ^d	9.84 ± 0.05a	9.81 ± 0.12a	9.78 ± 0.04a
	YKT ^d	9.56 ± 0.11a	9.37 ± 0.07a	9.46 ± 0.12a
	LB ^d	9.39 ± 0.16a	9.18 ± 0.14a	9.22 ± 0.10a
	CNRZ 187 ^d	9.70 ± 0.16a	9.40 ± 0.23a	9.48 ± 0.26a
<i>Lactobacillus acidophilus</i> ^c	LAI	10.84 ± 0.13a	10.82 ± 0.06a	°
	LA5	10.64 ± 0.27a	10.12 ± 0.25a	°
	A3	9.43 ± 0.06a	9.30 ± 0.25a	°
	A9	11.81 ± 0.06a	11.72 ± 0.07a	°
	N2 ^d	9.30 ± 0.34a	9.32 ± 0.18a	°
	N3 ^d	8.31 ± 0.30a	8.02 ± 0.20a	°
	CNRZ 1881 ^d	8.35 ± 0.07a	8.10 ± 0.09b	°
	CNRZ 1923 ^d	8.24 ± 0.22a	7.97 ± 0.11a	°
<i>Bifidobacterium bifidum</i> ^f	BB1	10.18 ± 0.09a	°	9.92 ± 0.16a
	BB12	11.28 ± 0.10a	°	11.26 ± 0.09a
	A12	10.59 ± 0.12a	°	10.16 ± 0.24b
	A8 ^d	9.68 ± 0.18a	°	9.54 ± 0.11a
<i>Bifidobacterium longum</i> ^f	A1 ^d	8.92 ± 0.07a	°	8.93 ± 0.07a
	A7 ^d	8.02 ± 0.29a	°	7.90 ± 0.09a
	BL ^d	9.40 ± 0.10a	°	9.29 ± 0.09a
<i>Bifidobacterium sp.</i> ^f	A2 ^d	9.69 ± 0.12a	°	9.60 ± 0.13a

^aMeans in row with a common letter do not differ ($P > 0.05$).

^bInhibitory medium for yoghurt starter bacteria (Vinderola & Reinheimer, 1999).

^cIncubation under aerobiosis.

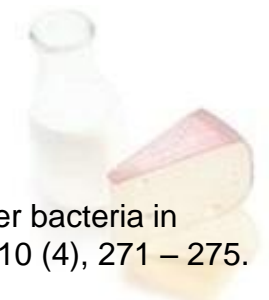
^dCFU mL⁻¹.

^e< 10⁹ CFU g⁻¹ or mL⁻¹.

^fIncubation under anaerobiosis.



INLAIN



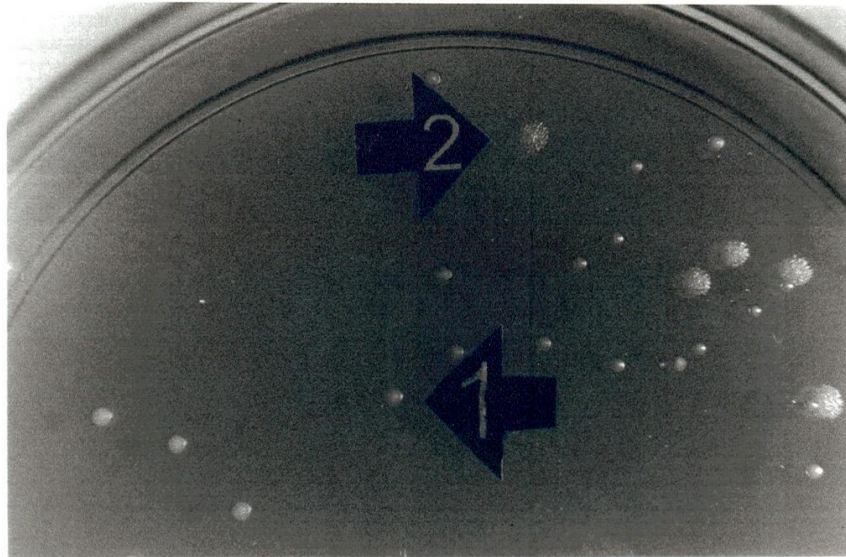
Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus*, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products (2000). C.G. Vinderola and J.A. Reinheimer. International Dairy Journal, 10 (4), 271 – 275.

MEDIOS DE CULTIVO PARA PRODUCTOS LÁCTEOS ARGENTINOS

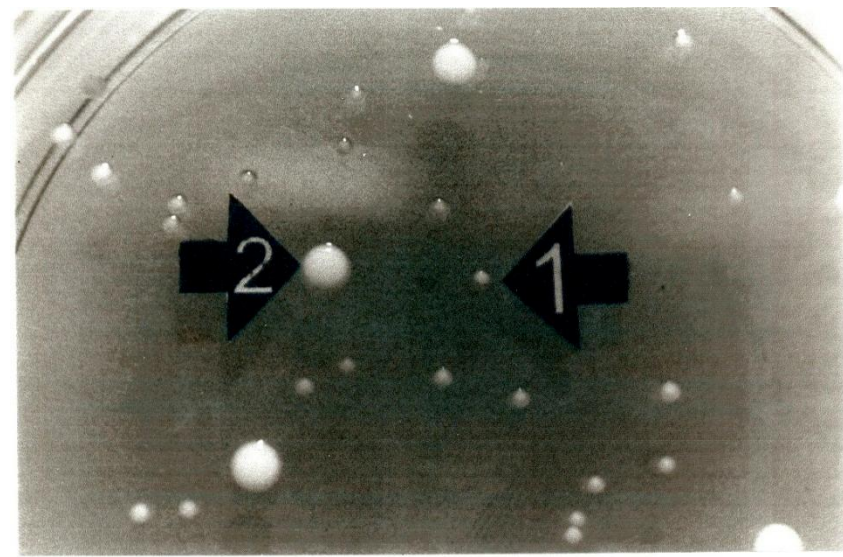
1- *L. casei*

2- *L. acidophilus*

1- Bifidobacterias



MRS-bilis



MRS-LP



Funcionalidad – Sobrevida en el alimento

Factores que condicionan la viabilidad de probióticos en un alimento lácteo fermentado:

- ✓ Cepa utilizada
- ✓ Prácticas de inoculación
- ✓ Acidez del producto
- ✓ Oxígeno disuelto
- ✓ Características del proceso tecnológico
- ✓ Interacciones con otras cepas
- ✓ Composición química
- ✓ Condiciones de almacenamiento

LECHES FERMENTADAS PROBIÓTICAS

○ **La más popular alternativa comercial hasta el momento**

○ **Principal ventaja:** el proceso tradicional de elaboración se adapta muy bien al agregado de bacterias probióticas: antes de la fermentación (yogur firme) o después (yogur batido y líquido).

LECHES FERMENTADAS..... ¿adecuado vehículo para probióticos?

Numerosos reportes de escasa viabilidad

- Elevado contenido de ácido láctico.
- Presencia de numerosos aditivos alimentarios.
- Oxígeno disuelto.
- Interacciones cultivos iniciadores–cultivos probióticos.

QUESOS PROBIOTICOS

Organismos usados

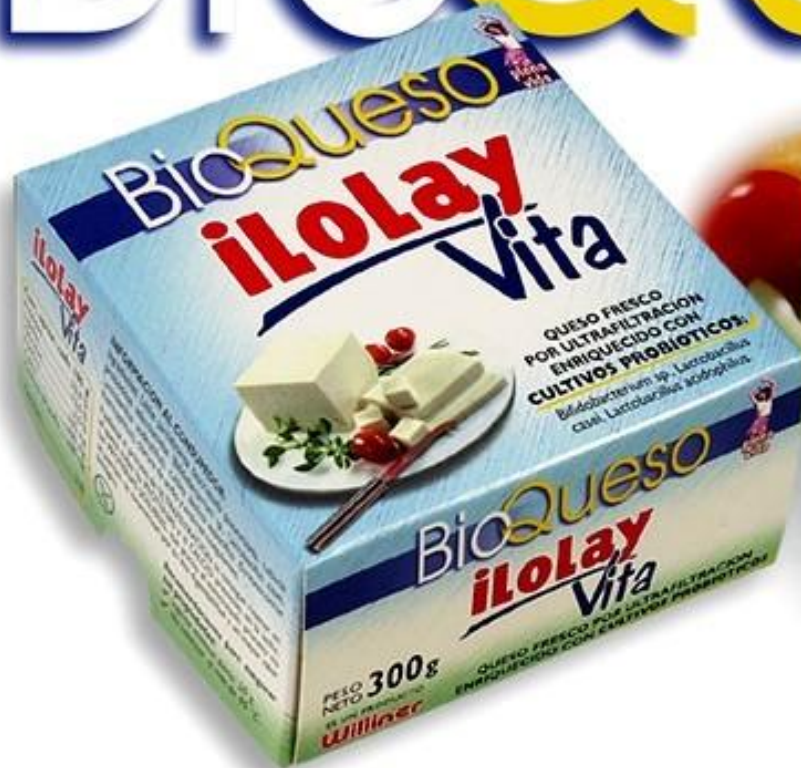
- *Bifidobacterium*: Cottage, Cheddar, Crescenza, Blanco salado.
- *Bifidobacterium* + *L. acidophilus*: Gouda y Goat cheese.
- *L. paracasei*: Cheddar.

RESULTADOS SATISFACTORIOS EN GENERAL (pH>5 + otros factores protectivos)

Consideraciones particulares

- Elección de las cepas más convenientes.
 - Concentración de sal.
 - Incidencia en el flavor.

BioQueso





**AHORA TUS QUESOS
LA SERENÍSIMA
TIENEN LACTOBACILLUS GG.**



**Tus quesos son los mismos,
vos estás mejor protegido.**

Mastellone



Probióticos: elección de la matriz adecuada para un suceso comercial

Leches fermentadas

Quesos

Helados

Manteca

Otros



Una cepa o una mezcla de ellas?

- **Pocos estudios sobre eficacia de mezclas de cepas probióticas.**
- **Hay buena evidencia que mezclas de probióticos producen efectos benéficos.**
- **Evidencia limitada de que las mezclas son mas efectivas que sus cepas integrantes.**
- **Muy pocos estudios que demostraron que una cepa es mas efectiva que una mezcla.**
- **En varios de estos estudios las dosis usadas para la cepa y la mezcla, fueron diferentes.**

Efectos terapéuticos o efectos preventivos?

Acción preventiva >> Acción terapéutica

Prevención de eczemas atópicos
Prevención de diferentes tipos de diarreas
Prevención de enfermedad inflamatoria intestinal (IBD)
Prevención de infecciones entéricas
Prevención de infecciones nasofaríngeas
Prevención de enfermedades autoinmunes
Prevención de sepsis en pacientes graves
Prevención de enterocolitis necrotizantes
Prevención de infección por *H. pilory*
Prevención de cáncer (colon, mamas)
Prevención de caries
Prevención de infecciones dérmicas
Prevención de diabetes

Disminución de síntomas de intolerancia a la lactosa
Modulación del tránsito intestinal
Disminución de hipertensión arterial
Disminución de niveles de colesterol

- Disminución de la **incidencia** de patologías.
- Disminución de la **frecuencia** de patologías.
- Disminución de la **severidad** de patologías.

**Consumo previo de bacterias
probióticas
o leches fermentadas**

MODELOS ANIMALES

- **Ampliamente usados para estudiar efectos de la microbiota intestinal sobre el organismo y viceversa.**
- **Desventaja: La fisiología de los animales difiere considerablemente de la de los humanos.**
- **Ventajas: usar animales con una virtualmente idéntica carga genética y suministrarles a todos ellos la misma alimentación y condiciones de alojamiento (ambiente, temperatura, ciclos de luz, etc), factores altamente variables en humanos.**

ESTUDIOS CLÍNICOS

- **Confirmación definitiva de los efectos funcionales.**
- **Necesidad de definir los parámetros funcionales a controlar**
- **Costosos (aprox. \$ 500.000)**
- **Colaboración de voluntarios y médicos.**
- **Definir toma de muestras, frecuencia y tiempo total del ensayo**

CONCLUSIONES

○ El desarrollo de alimentos probióticos está en continua expansión, impulsado por el interés creciente de los consumidores

○ Sin embargo, a nivel científico quedan conceptos por definir y recursos tecnológicos por desarrollar, para apoyar dicha expansión



...muchas gracias!

