

UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO



MANUAL PARA LA ENCAPSULACIÓN DE BACTERIAS UTILIZANDO ALGINATO DE SODIO/MUCÍLAGO DE NOPAL COMO AGENTE ENCAPSULANTE

Autores:

Zavala Martínez Lisset Guadalupe¹, Barrón Vilchis Daniela², San Juan Meza Perla Xiomara³, Reyes Escogido María de Lourdes¹

Departamento de Medicina y Nutrición, División de Ciencias de la Salud, Universidad de Guanajuato¹, Departamento de Farmacia, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato², División de Ciencias e Ingenierías, Universidad de Guanajuato³

Descripción

Se han atribuido diversas funciones al mucílago de nopal tanto en área de la salud como en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética. Una de las funciones propuestas es su utilidad como agente encapsulante, si bien de acuerdo a los ensayos realizados, el mucílago por si solo no tiene la capacidad de formar las microcápsulas, si lo hace al combinarse con el alginato el cual le proporciona el soporte necesario para que las microcápsulas se mantengan estables. Por lo tanto, en este documento se describe el procedimiento a seguir para la encapsulación de bacterias utilizando mucílago de nopal en mezcla con alginato de sodio, así como la caracterización de las microcápsulas.

Objetivo

Describir el proceso a seguir para la encapsulación de bacterias utilizando mucílago de nopal.

Equipo y materiales

Centrífuga

Campana de flujo laminar

Agitador orbital

Vortex

Incubadora

Autoclave

Balanza analítica

Vernier

Colorímetro

Bacterias a encapsular (*Lactobacillus plantarum* 1449)

Medio MRS (caldo)

Agar MRS

Jeringa de 3 ml

Solución Salina Fisiológica estéril (0.9%)

Alginato de sodio al 2%

Mucílago de nopal

Solución al 2% de alginato de sodio/mucílago en relación 1:1)

Solución de Cloruro de Calcio al 2%

Matraces Erlenmeyer

Caja de petri

Embudo de vidrio

Papel filtro

Procedimiento

1. Cultivo bacteriano

Las bacterias a encapsular deben de ser de cultivos frescos, que se encuentren al final de la fase logarítmica de la curva de crecimiento, en el caso de *Lactobacillus*, es a partir de cultivos de 24 h de incubación.

- a) Los cultivos se centrifugan a 1800 rpm durante 10 min para precipitar las células, el sobrenadante se elimina y las células se someten a dos lavados sucesivos con solución salina fisiológica estéril (NaCl al 0.9%).

2. Preparación del agente encapsulante

- a) Se prepara una mezcla de alginato de sodio-mucílago de nopal en relación 1:1 (AM), esta mezcla es la que se utiliza como el agente encapsulante.
- b) Se realizan los cálculos necesarios para preparar la suspensión del agente encapsulante a una concentración del 2%, la suspensión se esteriliza a 121°C/15 min.

3. Preparación de las microcápsulas

- a) El paquete celular obtenido en el punto 1 se resuspende en la suspensión del agente encapsulante obtenido en el punto 2. El volumen del agente encapsulante a utilizar para suspender las células será el correspondiente al volumen del cultivo inicial.
- b) La mezcla células-agente encapsulante se mantiene en agitación a 100 rpm durante 30 minutos.
- c) Una vez terminado el tiempo de agitación, la mezcla se pasa a una jeringa de 5 ml, y se deja gotear sobre una solución de Cloruro de Calcio al 2% estéril, en agitación constante.
- d) Terminado el goteo, se mantiene la agitación durante 30 minutos adicionales para completar la formación de las microcápsulas.
- e) Las microcápsulas se filtran y se les realizaron dos lavados con solución salina fisiológica estéril.
- f) Las microcápsulas recuperadas se utilizan para realizar la caracterización inmediatamente y se mantienen en refrigeración (4-8°C) para estudiar su estabilidad a diferentes tiempos.

4. Caracterización de las microcápsulas

- a) Se seleccionan al azar 10 microcápsulas a las cuales se les determina el peso utilizando una balanza analítica, se obtiene el promedio de los pesos y se reporta en mg (\pm DS) por microcápsula. Con ayuda de un vernier se determina el tamaño promedio de las microcápsulas cuyo resultado se reporta en mm (\pm DS).
- b) Los parámetros de color L^* , a^* y b^* se determinan con ayuda de un colorímetro y se obtiene el ΔE (diferencia de color con respecto al alginato de sodio solo), para determinar si el mucílago de nopal proporciona color adicional al agente encapsulante lo cual podría alterar la percepción y aceptabilidad de este.

5. Viabilidad y eficiencia de la encapsulación

- a) Se pesa 1 g de microcápsulas, se disuelven en 9 ml de citrato de sodio al 1%. A partir de la suspensión inicial se realizan siete diluciones seriales en tubos con 9 ml de agua peptonada estéril, las últimas 3 diluciones se siembran sobre placas de agar MRS por extensión, las siembras se realizan por duplicado. Se incuban a 37°C durante 48 h.
- b) Se realizan los recuentos de las colonias y se reporta como UFC/g de microcápsulas. El número obtenido corresponde a la viabilidad de las células.
- c) Para determinar la eficiencia de la encapsulación, mediante el procedimiento ya descrito, se obtienen las UFC/ml de la suspensión original antes de la encapsulación.
- d) La Eficiencia de la Encapsulación (EE) se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$EE = \left(\frac{\log_{10} N}{\log_{10} N_0} \right) * 100$$

Donde:

N: UFC/g de microcápsulas

N_0 : UFC/ml de células en la suspensión antes de la encapsulación