

Evaluación de la producción de exopolisacáridos a partir de *Lactobacillus fermentum* L14

Evaluation of the production of exopolysaccharides from *Lactobacillus fermentum* L14

Yaneth Amparo Muñoz Peñaloza*,

Diana Carolina Villán Larios**, Harold Yesid Bermon Bayona***

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v27n2.93847

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió la capacidad de producción de exopolisacáridos (EPS) que posee el aislado nativo *Lactobacillus fermentum* L14, cepa perteneciente al banco de cepas de la Universidad Francisco de Paula Santander. Se emplearon como medios de cultivo residuos agroindustriales como el lactosuero-ácido y la harina de arroz paddy. Para ello se realizó un diseño factorial 2^2 con tres repeticiones donde se evaluó la temperatura (20 °C y 30 °C) y medio (lactosuero-ácido y la harina de arroz paddy) con una concentración de sustrato 10% (p/v), todos los experimentos fueron evaluados en volúmenes de 200 mL. Como resultado se logró obtener 20 g/L y 30 g/L de exopolisacáridos para los medios de cultivo de lactosuero y harina de arroz, respectivamente. El análisis de varianza ANOVA determinó que los factores “medios” y “temperatura” fueron significativos en la producción de EPS con un ($p < 0.05$). Además, se caracterizó la composición del polisacárido obtenido a través de metodología HPLC (sacarosa 60%, glucosa 11,72% y fructosa 3,03%). Se evidencia el gran potencial que tienen los residuos agroindustriales como sustratos ideales para la producción de exopolisacáridos (EPS) a través de bacterias ácido lácticas (BAL).

Palabras claves: *Lactobacillus fermentum* – exopolisacáridos – residuos agroindustriales – bacterias ácido lácticas (BAL).

ABSTRACT

In the present work the exopolysaccharide (EPS) production capacity of the native isolate *Lactobacillus fermentum* L14, a strain belonging to the Francisco de Paula Santander University strain bank, was studied. Agroindustrial residues such as acid whey and paddy rice flour were used as culture media. For this, a 2^2 factorial design was carried out with three repetitions where the temperature (20 °C and 30 °C) and medium (acid whey and paddy rice flour) were evaluated with a substrate concentration of 10% (p / v), all experiments were evaluated in volumes of 200 mL. As result, it was possible to

*, **, *** Universidad Francisco de Paula Santander. Departamento de Ciencias del medio ambiente, #0-a Av Gran Colombia No. 12E -96, CP:540003, Cúcuta, Norte de Santander, Colombia. <https://orcid.org/0000-0001-6748-4781>, e-mail: yanethamparomp@ufps.edu.co

** Universidad Francisco de Paula Santander. Departamento de Ciencias del medio ambiente, <https://orcid.org/0000-0002-9497-4521>, e-mail: carolarios.312@gmail.com, Cúcuta, Norte de Santander, Colombia.

*** Universidad Francisco de Paula Santander. Departamento de Ciencias del medio ambiente, e-mail: <https://orcid.org/0000-0002-1529-8183>, e-mail: yessbermon@gmail.com, Cúcuta, Norte de Santander, Colombia.

obtain 20 g/L and 30 g/L of exopolysaccharides for the culture media of acid whey and rice flour, respectively. The analysis of variance ANOVA determined that the factors “culture media” and “temperature” were significant in the production of EPS with a ($p < 0.05$). Also, the composition of the polysaccharide obtained was characterized through HPLC methodology (sucrose 60%, glucose 11.72%, and fructose 3.03%). The great potential of agro-industrial residues as ideal substrates for the production of exopolysaccharides (EPS) through lactic acid bacteria (LAB) is evidenced.

Keywords: *Lactobacillus fermentum* - exopolysaccharides - agro-industrial waste - lactic acid bacteria (BAL).

Recibido: febrero 27 de 2023

Aprobado: 15 de agosto de 2025

INTRODUCCIÓN

Los exopolisacáridos microbianos (EPS) comprenden un amplio grupo de polímeros secretados por la mayoría de los microorganismos que están unidos a la superficie celular (polisacáridos capsulares) o liberados como limo extracelular (polisacáridos extracelulares) (Nachtigall *et al.*, 2020). Este tipo de moléculas ofrece un amplio espectro de aplicaciones en la industria alimentaria, ya que son utilizados como espesantes, estabilizadores, emulsionantes y agentes gelificantes; mejorando la reología y la textura de los alimentos fermentados (Hassan *et al.*, 2003). Además, tienen la capacidad de mejorar la salud humana debido a sus actividades antioxidantes, antitumorales, antiulcerosas, inmunomoduladoras o reductoras del colesterol (Lee *et al.*, 2018). Los EPS también ayudan a los prebióticos a sobrevivir al ácido gástrico y a las sales biliares en el tracto gastrointestinal (Aa *et al.*, 2009; Hutchison *et al.*, 2019). Se ha visto que los EPS contribuyen a un aumento en el tiempo de residencia de la leche fermentada ingerida en el tracto gastrointestinal, apoyando así la colonización transitoria por bacterias probióticas (Angelin & Kavitha, 2020).

La producción de EPS en condiciones de laboratorio, se realiza usualmente empleando medios de cultivo definidos, con una elevada relación carbono / nitrógeno, donde la cantidad de nitrógeno induce a la limitación del crecimiento y el carbono estimula la producción de EPS (Song *et al.*, 2020). A escala industrial, se usa el mismo principio. Sin embargo, por motivos económicos, se emplean sustratos generalmente complejos, obtenidos a partir de subproductos de actividades agroindustriales. Por ejemplo, la producción de dextrano se realiza mediante fermentaciones bacterianas, donde el sustrato comúnmente empleado es la sacarosa en concentraciones aproximadas de 5%, y en fermentación enzimática puede ser la rededor del 20%, para obtener una concentración de dextrano de 20 g/L. Han sido pocos los estudios referidos al uso de otros sustratos para la producción de polisacáridos; el Centro de Investigación Biotecnológica de Irán, realizó una investigación sobre

la producción de dextrano a partir de fuentes económicas del país, como melazas de remolacha y extracto de salvado de trigo, con lo cual lograron una concentración de 9,44 g/L de dextrano (Behravan *et al.*, 2003).

El uso de suero ácido y harina de arroz paddy como sustratos de fermentación económicos para la producción de polisacáridos, contribuiría al empleo de estos subproductos agroindustriales ayudaría a disminuir la eliminación de estos productos. Teniendo en cuenta lo anterior, en la presente investigación, se evalúa el uso de lacto suero ácido y harina de arroz paddy, para la producción de exopolisacáridos (EPS).

MATERIALES Y METODOS

Mantenimiento de la cepa

La cepa empleada en esta investigación fue *Lactobacillus fermentum* L14, la cual fue aislada del fermento de masato (bebida autóctona tradicional de Norte de Santander-Colombia) e identificada genéticamente mediante la amplificación del ARN ribosomal 16S. La cepa fue conservada en viales por el método de ultra congelación utilizando glicerol a 3% como crioprotector y como base aislante solución salina al 0.85%, con una concentración del nivel 5 en el estándar de Macfarland a una temperatura de -80 °C. Para mantener el banco de trabajo de la cepa se utilizó agar nutritivo suplementado al 5 % de sacarosa, previamente esterilizado a 121° C/15minutos e incubadas a 37°C/5-7 días.

Control de calidad

Para asegurar la viabilidad del banco de células de trabajo, se realizaron ensayos de pureza microbiana tomando un vial de conservación y realizando pases en un medio de agar nutritivo suplementado con 5 % de sacarosa, también se realizaron pruebas bioquímicas como el agar hierro triple azúcar (TSI), agar indol sulfato motilidad (SIM) y caldo Voges-Proskauer (VP); con el fin de verificar la actividad biológica de la cepa. Finalmente, se realizaron pruebas de tinción de Gram para verificar la morfología de la cepa de *Lactobacillus fermentum* L14.

Condiciones de cultivo

Las bacterias se cultivaron en caldo nutritivo con el fin de evaluar una muestra cero. Las fermentaciones se realizaron en volúmenes de 200 mL en recipientes de vidrio de forma cilíndrica con capacidad de 1 L. El inóculo empleado fue de 10% v/v proveniente de cultivos en medio de agar nutritivo suplementado al 5 % de sacarosa, donde se habían cultivado previamente las bacterias, la temperatura del cuarto de cultivo se mantuvo a 20 °C y 30 °C. Se tomaron muestras cada 3 h, con un tiempo total de fermentación de 48 h. De la misma manera, se realizaron las fermentaciones con los medios agroindustriales a base de lactosuero ácido y harina de arroz paddy. Durante el proceso de investigación se contó con lactosuero ácido suministrado por la microempresa DOS VENTANITAS de la ciudad de Cúcuta, Norte de Santander, Colombia. El lactosuero fue sometido a un proceso de clarificación con el fin de eliminar trazas de lactosa en el medio. También se tomaron muestras de arroz paddy proporcionada por FEDEARROZ de la ciudad de Cúcuta, Norte de Santander, Colombia. El crecimiento de biomasa fue determinado por densidad óptica (OD) a 600 nm (Kieliszek *et al.*, 2016), y la cantidad de carbohidratos totales se determinó cualitativamente por el método fenol-ácido sulfúrico (DuBois *et al.*, 1956).

Extracción y purificación del exopolisacárido (EPS)

Las muestras tomadas de las fermentaciones de *L. fermentum* L14 cultivadas en los medios alternativos, se centrifugaron (1030 rcf, 15 min, 4 °C), para eliminar las células en suspensión. Al sobrenadante se le añadió etanol 96% frío en una proporción 1:10 y se almacenó a 4 °C durante 24

h, para precipitar el EPS. Después, se centrifugó la solución homogenizada (800 rcf, 15 min, 4 °C) para eliminar el etanol. El sedimento se re-suspendió en agua destilada, agitando por 5 min y luego se centrifugó (2800 rcf, 15 min, 4 °C). Finalmente, el EPS fue sometido a 97 °C en mufla 1h con el fin de eliminar el máximo contenido de agua de la producción. La cuantificación de los niveles totales de carbohidratos se realizó utilizando el método de fenol-sulfuro (DuBois *et al.*, 1956). Se usó como estándar una solución purificada de carboximetilcelulosa de viscosidad media (López-Legarda *et al.*, 2017).

Caracterización del polímero

La caracterización del polímero producido se realizó mediante la técnica de HPLC (cromatografía líquida de alta eficiencia). Este procedimiento fue realizado en el laboratorio de análisis de alimento CICTA, de la Universidad Industrial de Santander (UIS) – Sede Bucaramanga. Donde se utilizó un cromatógrafo líquido HPLC Thermo Dionex Ultimate 3000 equipado con desgasificador, inyector automático, columna ICE ICsep-COREGEL 107-H (300mm×7,8mm×10µm) acoplada a un horno con temperatura de 30 °C, empleando un detector UVVis en serie con un detector RI a 30 °C. Se utilizó como fase móvil H₂SO₄ 5mM en modo isocrático con un flujo de 0,6 mL/min (Zapata *et al.*, 2007).

Análisis estadístico

Con base en la literatura consultada y experimentaciones previas realizadas en el laboratorio, el diseño propuesto fue un modelo factorial con dos factores: “temperatura” (20°C y 30°C) y “medio de culti-

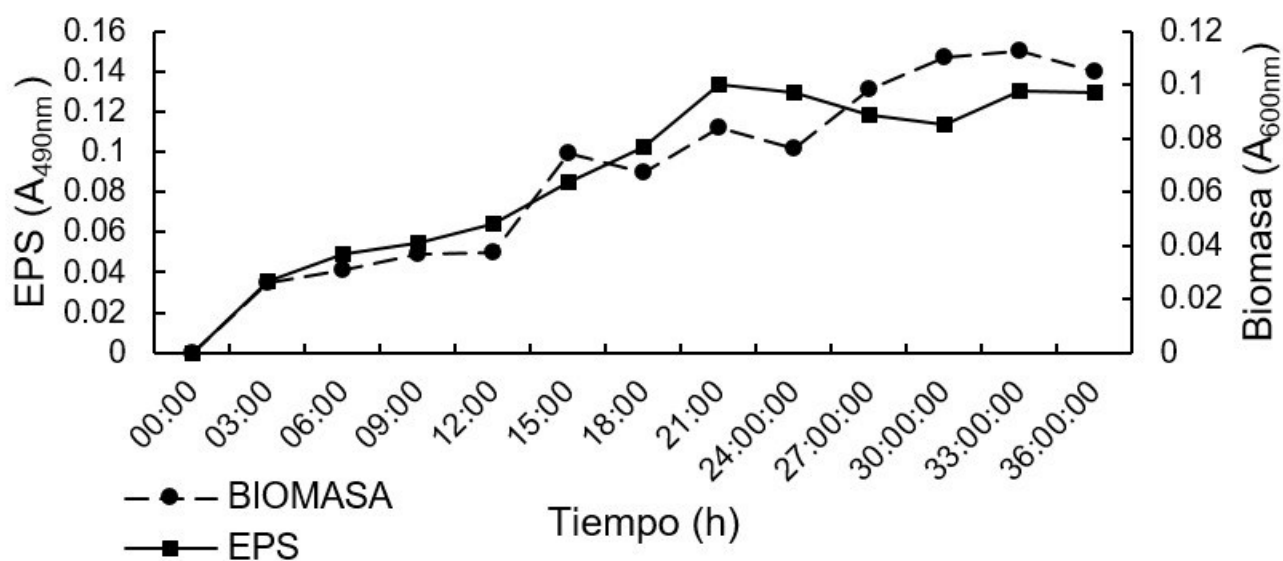


Figura 1. Crecimiento de *Lactobacillus fermentum* L14 en caldo nutritivo OD 600nm vs producción de exopolisacáridos OD 490nm. Los resultados presentados son el promedio de 2 repeticiones.

vo" (lactosuero-ácido y harina de arroz paddy), con la hipótesis planteada: ambos factores tienen efecto sobre la producción de biomasa y exopolisacáridos de *L. fermentum* L14 en condiciones de cultivo sumergido. Todos los experimentos se repitieron 3 veces. Y se realizó un ANOVA bidireccional utilizando el software SPSS. Las medias se compararon mediante la prueba Tukey a $P = 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSION

Cinética de crecimiento de *Lactobacillus fermentum* L14 y producción de exopolisacáridos

A partir de los datos obtenidos de crecimiento de biomasa y producción de exopolisacáridos, durante el periodo de fermentación de 48 horas se puede observar en la Figura 1. que *Lactobacillus fermentum* L14 alcanzó su máximo crecimiento en biomasa microbiana entre las 30 – 33 horas de cultivo y luego disminuyó progresivamente; los valores de EPS fueron aumentando durante las primeras 21 horas de cultivo y fueron disminuyendo continuamente hasta poco después de que la fermentación entro en fase estacionaria en el crecimiento microbiano. Por otra parte, hubo poca variabilidad de los valores obtenidos entre las réplicas realizadas.

Los resultados obtenidos concuerdan con varias investigaciones que resaltan la capacidad que tienen las bacterias ácido lácticas para producir EPS, por ejemplo *Lactobacillus fermentum* MC3 el cual fue aislado de una fermentación de brotes de bambú, logro producir 88.776 mg/L de EPS en caldo MRS a 37 °C para una fermentación de 48 h (Do et al., 2020). Por otra parte, *Lactobacillus fermentum* MTCC 25067 produce un heteroexopolisacárido (HePS) cuando se cultiva en caldo MRS durante una fermentación de 144 h con temperatura de 30 °C

y en ausencia de agitación para estimular la actividad enzimática del microorganismo (MENGI et al., 2020). Además, son varios los esfuerzos que se han realizado para mejorar los rendimientos de producción de EPS en BAL ya que son bacterias con importancia por ser consideradas seguras (Torino et al., 2015), investigaciones han demostrado que tiempos de incubación muy largos pueden generar pérdidas de polímero debido a la actividad enzimática degradadoras de EPS (Pham et al., 2000). También, la calidad y cantidad producida de EPS está influenciada por la especie de microorganismo que se usa para el proceso. Especies como *Lb. fermentum* TDS030603 (Fukuda et al., 2010), *Lb. fermentum* F6 (Zhang et al., 2011) y *Leu. pseudomesenteroides* (Yang et al., 2018) fueron capaces de producir 97,1 mg / L, 33,05 mg / L y 12,5 g / L de EPS, respectivamente. Trabajos realizados con *L. delbrueckii* para evaluar la producción y composición de EPS en medios químicamente definidos revelaron que las condiciones de fermentación como fuente de carbono, tiempo de cultivo, temperatura y pH pueden afectar notablemente los rendimientos de producción y las proporciones relativas de los monosacáridos en el EPS (Petry et al., 2000). Además, investigadores aseguran que la síntesis de EPS producidas a partir de las BAL, precisan temperaturas de incubación inferiores a 30°C, ya que son bacterias mesófilas productoras de ácido láctico que exhiben una síntesis de su pared celular y crecimiento celular mucho más lento, lo que conlleva a un consumo menor de fosfato isoprenoide, que podría estar disponible para la producción de EPS por parte de este tipo de bacterias, cuando se encuentran en una fase estacionaria de la fermentación (Adesulu-Dahunsi et al., 2018; Petry et al., 2000).

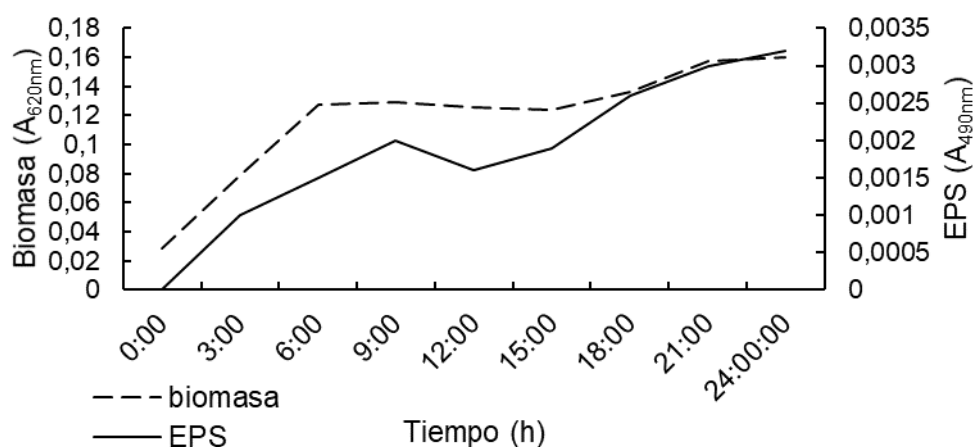


Figura 2. Cinética de crecimiento Vs producción de EPS en medio alternativo a partir de lactosuero ácido.

Fermentación a partir de lactosuero ácido

Como se observa en la Figura 2, el crecimiento para el microorganismo identificado como *Lactobacillus fermentum* L14, se mantiene en estado exponencial durante las primeras 6 horas de fermentación y luego tiende a tener un periodo estacionario, para después llegar a su punto máximo de producción de polímero entre las 21 – 24 horas de fermentación. También se observa que la producción de EPS en el medio tiende a mantenerse en estado creciente, pero en muy pequeñas cantidades. Sin embargo, en ningún momento el medio se tornó viscoso.

Algunos científicos consideran que los costos de producción de exopolisacáridos son elevados, debido al alto costo de las fuentes de carbono (azúcares) y a las fuentes de nitrógeno orgánico (Wang & Bi, 2008). Por lo tanto, la utilización de fuentes alternativas de carbono y nitrógeno de bajo costo, provenientes de residuos agroindustriales, es una alternativa económicamente atractiva (Z. Li *et al.*, 2010). Por ejemplo, la lactosa de suero y agua de coco madura, que son subproductos de la producción de queso y leche de coco, respectivamente, contienen una gran cantidad de azúcares (lactosa, fructosa, glucosa y sacarosa) que se usan como buenas fuentes de carbono para los microorganismos (Cheirsilp *et al.*, 2018; Kantachote *et al.*, 2016), por lo que algunos investigadores han usado estas fuentes alternativas para la producción de kefirán por *L. kefiranofaciens*. En dichos estudios se demostró que la gran mayoría de bacterias prefieren el uso de glucosa como fuente primaria de energía y que son muy pocas las bacterias que prefieren la lactosa (Cheirsilp *et al.*, 2018). En este estudio se demostró que la cepa *Lactobacillus fermentum* L14 es capaz de utilizar lactosa y sacarosa como fuente principal de carbono y así lograr la síntesis de mo-

léculas. En otra investigación, se estudiaron que efectos atribuyen el tipo de fuente de carbono en la producción de EPS, teniendo como resultado que la lactosa proporciona un aumento de biomasa en el medio con rendimientos de 4.3 % en la producción de EPS (Ghasemlou *et al.*, 2012). Esto puede estar asociado al hecho de que la lactosa puede transportarse mediante sistemas de fosfotransferasa y la β -galactosidasa que descompone la lactosa en galactosa y glucosa (Zajšek *et al.*, 2013). También, se ha demostrado que las fuentes de nitrógeno pueden afectar considerablemente la producción, por lo que medios enriquecidos con proteínas, aminoácidos, minerales y vitaminas estimulan el crecimiento de los microorganismos (Dailin *et al.*, 2016). Sin embargo, un medio con fuentes de nitrógeno/carbono muy elevadas afecta notablemente los rendimientos de la producción de EPS. Un ejemplo de esto es *L. kefiranofaciens* que alcanzó una concentración celular final ligeramente más baja de $2,13 \pm 0,07$ g / L y la tasa de crecimiento específico disminuyó levemente a $0,493 \pm 0,012$ h⁻¹ (Ghasemlou *et al.*, 2012). Esto probablemente se debió a los efectos inhibidores del alta concentración de azúcares en el medio (Cheirsilp *et al.*, 2018). Por otra parte, durante un estudio de fermentación con suero desproteínizado usando granos de kéfir se observó la producción de EPS después de 5 días, la cual fue aumentando alcanzando valores de hasta 103.4 mg/L. Sin embargo, en algunos ensayos se observó afectada la producción, ya que el medio favorece el crecimiento celular (Rimada & Abraham, 2001).

Fermentación a partir de harina de arroz paddy

En la Figura 3, se observa el crecimiento de *L. fermentum* L14 en medio de harina de arroz paddy, el cual mantiene una fase estacionaria desde las 6 h hasta las

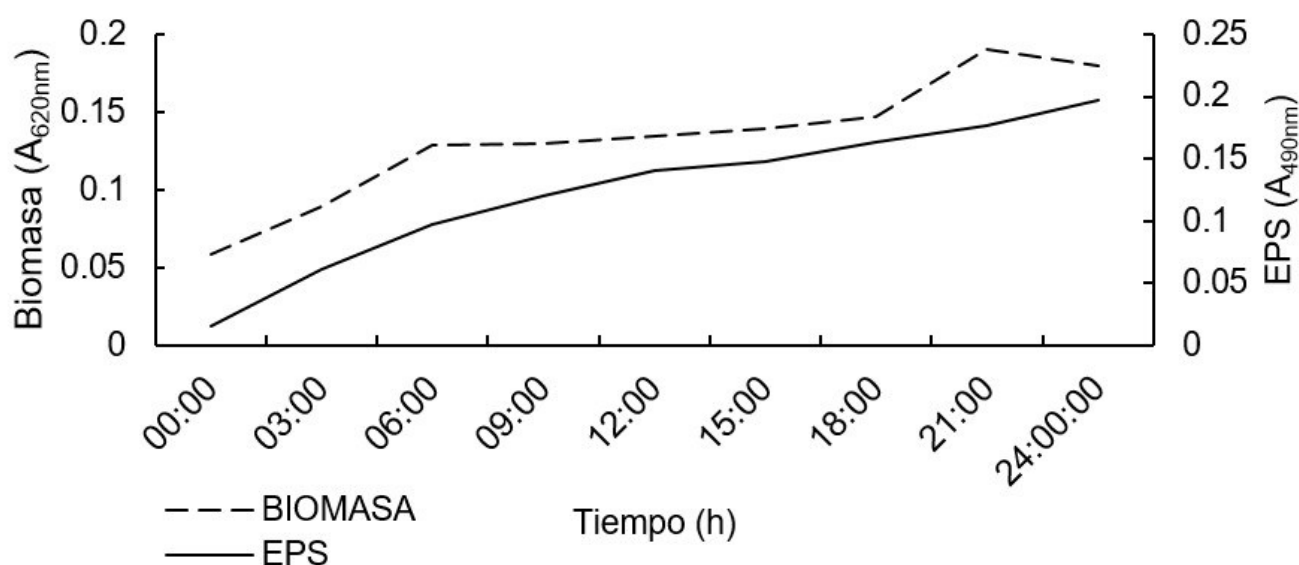


Figura 3. Cinética de crecimiento Vs producción de EPS en medio alternativo a partir de harina de arroz paddy.

Tabla 1. Análisis de varianza (ANOVA) para producción de EPS

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo corregido	,467 ^a	11	,042	0.012.	.000.
Interceptación	8,107	1	8,107	0.005.	.000.
MEDIOS	,058	1	,058	0.001.	.000.
Temperatura	,393	9	,044	0.015.	.000.
MEDIOS * Temperatura	,002	1	,002	0.006.	.000.
Error	,000	0	.		
Total	9,257	12			
Total corregido	,467	11			

18 h de fermentación y luego tiende a ir en aumento ya finalizando las 24 horas de inoculación. Su punto máximo de producción de polímero se obtuvo al final del proceso, por lo que se puede asumir que podría tener su máximo pico de rendimiento productivo pasando las 24 h de fermentación. También se logró observar en el medio una leve precipitación que proporcionaba viscosidad durante el proceso de fermentación. Además, se logró obtener un rendimiento productivo de 30 g /L.

Varios estudios realizados sobre la producción de EPS a partir de BAL, resaltan que este tipo de bacterias pueden producir altos niveles de EPS usando como medio de cultivo MRS. Sin embargo, son muy pocos los estudios que han evaluado la capacidad que posee las BAL para sintetizar moléculas a partir de la fermentación de cereales. Por ejemplo, una cepa de *L. plantarum* que no es capaz de producir EPS en medio de MRS, resultó tener la capacidad de sintetizar este tipo de moléculas en medios sumergidos a base de harina de trigo, quinua y amaranto (Valerio *et al.*, 2020), tales resultados concuerdan con la actividad productora de EPS en *L. fermentum* L14. Algunos investigadores sugieren que esta actividad bacteriana se debe a la producción de β -glucanos, que se encuentran naturalmente en harinas fermentadas como la avena y el arroz (Pérez-Ramos *et al.*, 2017), esto se pudo observar en el aumento de viscosidad que tenía el medio durante el proceso de fermentación.

No obstante, la producción de EPS puede ser afectada por el tipo de cereal presente en el medio de cultivo (Hu & Gänzle, 2018). Un estudio realizado en cepas de *W. cibaria* demostró que era posible producir 20,79 g / kg de EPS en masa madre, pero al cambiar el trigo por la harina de quinua se observó un descenso en la producción de EPS, además su punto máximo de producción fue 26 horas de fermentación en comparación a la harina de trigo (Wolter *et al.*, 2014). Varios estudios aseguran que para la producción de biomasa en cepas de *Lactobacillus* que son usados como cultivos iniciadores de alimentos seguros, es mejor usar como fuente de carbono sacarosa acompañada de medios complejos,

que faciliten el crecimiento celular y eficiencia en la síntesis de EPS (Chen *et al.*, 2010; Das *et al.*, 2020; Luangsakul *et al.*, 2009).

Análisis estadístico

El análisis de varianza demostró que tanto el medio de cultivo como la temperatura influyen en la producción de EPS ($P < 0.05$). Además, muestra una interacción significativa entre los factores temperatura y medio ($p < 0.05$). En los anteriores resultados se puede observar que el mejor medio para la producción de EPS es el medio de arroz paddy, excepto cuando la temperatura está a 20 ° C. Sin embargo, cuando se observa la producción de EPS en ambos medios, el factor temperatura resulta ser significativo, presentándose en los mayores niveles con la temperatura de 30 °C. De acuerdo con el análisis estadístico realizado a los tratamientos, en aquellas fermentaciones suplementadas con harina de arroz paddy se obtuvo un efecto significativo ($p > 0,05$) sobre la producción de polisacáridos. Este fenómeno del efecto de la concentración de sacarosa fue notorio en los ensayos realizados con harina de arroz paddy en su nivel superior (30 g/L). Los análisis mostraron que los experimentos realizados con lactosuero ácido, aumentaban de igual forma el crecimiento celular y disminuían levemente la producción del polisacárido, siguiendo una tendencia lineal significativa; esto indica que la concentración de los productos no aumentó con la complejidad del sustrato en el rango establecido de trabajo; caso contrario ocurrió con la harina de arroz paddy, cuyo comportamiento presentó un ajuste satisfactorio, probablemente debido a su componentes naturales.

Caracterización del polímero

Como observamos en la Figura 4. el análisis de HPLC identificó que el polímero obtenido es un heteropolisacárido (HePS) debido a la presencia de varios picos cromatográficos, determinando que está compuesto por sacarosa 60%, glucosa 11,72% y fructosa 3,03% respectivamente. Este resultado concuerda con los obtenidos por otros autores, donde los EPS producidos por BAL pueden presentar una variación en su composición de

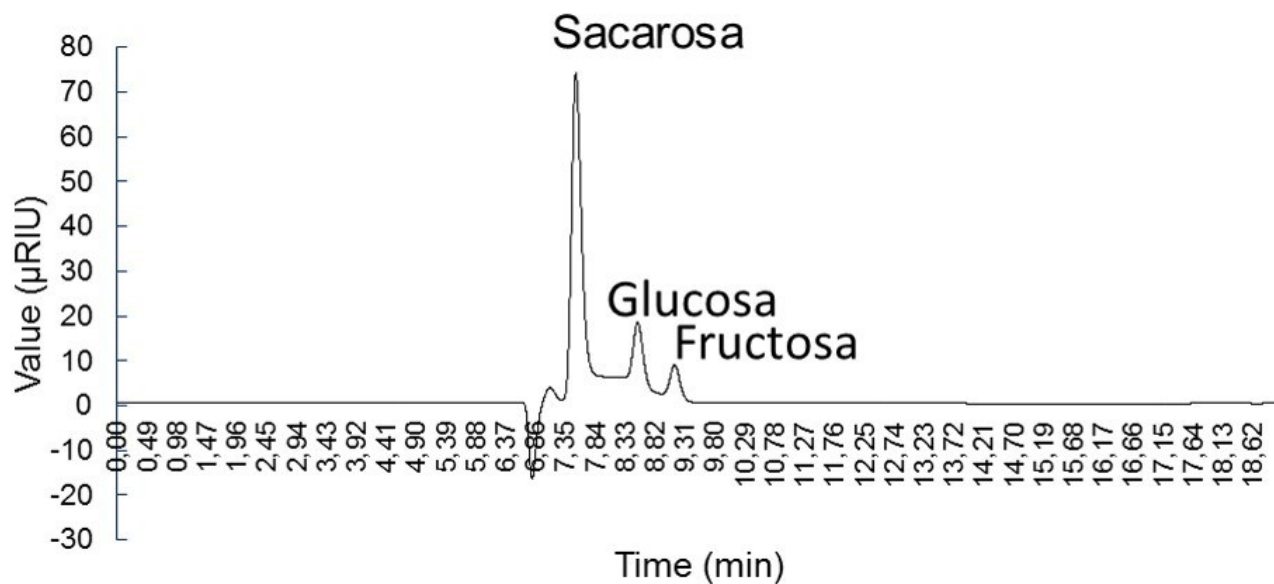


Figura 4. Resultado del análisis de HPLC del polímero producido en laboratorio. Identificado en el laboratorio de alimentos CICTA

monosacáridos. Por ejemplo, trabajos con *L. plantarum* EP56 (Adesulu-Dahunsi et al., 2018, *Lactobacillus plantarum* NTMI05 y NTMI20 (Imran et al., 2016, reportaron monómeros de glucosa, fructosa y galactosa en muestras de EPS. En un estudio con *Lactobacillus helveticus* MB2-1 donde se utilizó leche como medio basal, se detectó que el EPS producido era un HePS compuesto por galactosa, glucosa y manosa (W. Li et al., 2014. La detección alta de sacarosa puede corresponder a una incompleta hidrolización del EPS o al resultado de las funciones biológicas, que ayudan a la célula en la adaptación de sus entornos ecológicos (Broadbent et al., 2003)

Comparando estos resultados, podemos concluir que la composición del polímero es similar con los perfiles de dextrano, el cual es un polisacárido muy estudiado, para uso en diferentes aplicaciones industriales, farmacéuticas, agrícolas y alimentarias. Además, este tipo de polisacáridos extracelulares son sintetizados por las bacterias cuando son sometidas a crecer en medios de cultivo con fuente de carbono de sacarosa, esta excreción actúa como una cubierta protectora, compuesta de cadenas ramificadas de D-glucopironosa unidas a enlaces α -(1 \rightarrow 6), y las ramas son formadas por enlaces α -(1 \rightarrow 2), α -(1 \rightarrow 3), α -(1 \rightarrow 4) (Donnarumma et al., 2014).

CONCLUSIONES

Se lograron obtener EPS a partir de medios agroindustriales que fueron eficientes para el crecimiento de *L. fermentum* L14 usando como fuente de carbono la sacarosa, alcanzando su máxima concentración celular a las 27 horas de fermentación, evidenciando el alto poten-

cial que tienen los subproductos como sustratos para la producción de exopolisacáridos. Se consiguió la máxima producción de EPS total (30 g/L) en reactores de 5 litros, mediante una fermentación en el medio de cultivo a base de harina de arroz y utilizando sacarosa como fuente de carbono adicional, a una concentración de 10% (p/v), con una temperatura de incubación de 30°C. Además, se logró caracterizar el polisacárido producido en el laboratorio por mediante HPLC, determinando que está compuesto por monómeros de sacarosa 60%, glucosa 11,72% y fructosa 3,03%, respectivamente.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al grupo de Investigación Ambiente y Vida, al semillero de Biotecnología Industrial por todo el apoyo brindado durante el proceso de investigación. A la Universidad Francisco de Paula Santander (Cúcuta - Colombia) y al Ministerio de Ciencia y Tecnología (Colombia) por facilitar los procesos de financiamiento y así desarrollar conocimiento científico.

REFERENCIAS

- Aa, K., Ib, S., E, O., L, G., Jm, B., & Vj, V. (2009). Preservation of bacteria in natural polymers. *Journal of Microbiological Methods*, 78(2), 189-194. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2009.05.017>.
- Adesulu-Dahunsi, A. T., Jeyaram, K., Sanni, A. I., & Banwo, K. (2018). Production of exopolysaccharide by strains of *Lactobacillus plantarum* YO175 and OF101 isolated from traditional fermented cereal beverage. *PeerJ*, 6. <https://doi.org/10.7717/peerj.5326>.

- Angelin, J., & Kavitha, M. (2020). Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 853-865. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.190>.
- Behravan, J., Bazzaz, B. S. F., & Salimi, Z. (2003). Optimization of dextran production by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512 using cheap and local sources of carbohydrate and nitrogen. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 38(Pt 3), 267-269. <https://doi.org/10.1042/BA20030084>.
- Broadbent, J. R.; Houck, K.; Johnson, M. E. y Oberg, C. J. (2003). Influence of adjunct use and cheese microenvironment on nonstarter bacteria in reduced-fat Cheddar-type cheese. *J. Dairy Sci.* 86:2773-2782.
- Cheirsilp, B., Suksawang, S., Yeesang, J., & Boonsawang, P. (2018). Co-production of functional exopolysaccharides and lactic acid by *Lactobacillus kefiranofaciens* originated from fermented milk, kefir. *Journal of Food Science and Technology*, 55(1), 331-340. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2943-7>.
- Chen, Y.-S., Wu, H.-C., Liu, C.-H., Chen, H.-C., & Yanagida, F. (2010). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from jiang-sun (fermented bamboo shoots), a traditional fermented food in Taiwan. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(12), 1977-1982. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4034>.
- Dailin, D. J., Elsayed, E. A., Othman, N. Z., Malek, R., Phin, H. S., Aziz, R., Wadaan, M., & El Enshasy, H. A. (2016). Bioprocess development for kefir production by *Lactobacillus kefiranofaciens* in semi industrial scale bioreactor. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 23(4), 495-502. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.06.003>.
- Das, S., Mishra, B. K., & Hati, S. (2020). Techno-functional characterization of indigenous *Lactobacillus* isolates from the traditional fermented foods of Meghalaya, India. *Current Research in Food Science*, 3, 9-18. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2020.01.002>.
- Do, T. B. T., Tran, T. A. L., Tran, T. V. T., Le, T. H., Jayasena, V., Nguyen, T. H. C., Nguyen, C. C., Kim, S. Y., & Le, Q. V. (2020). Novel Exopolysaccharide Produced from Fermented Bamboo Shoot-Isolated *Lactobacillus Fermentum*. *Polymers*, 12(7). <https://doi.org/10.3390/polym12071531>.
- DuBois, Michel., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, Fred. (1956). Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>.
- Fukuda, K., Shi, T., Nagami, K., Leo, F., Nakamura, T., Yasuda, K., Senda, A., Motoshima, H., & Urashima, T. (2010). Effects of carbohydrate source on physico-chemical properties of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus fermentum* TDS030603 in a chemically defined medium. *Carbohydrate Polymers*, 79(4), 1040-1045. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.10.037>.
- Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., Jahanbin, K., Gharibzaheidi, S. M. T., & Taheri, S. (2012). Structural investigation and response surface optimisation for improvement of kefir production yield from a low-cost culture medium. *Food Chemistry*, 133(2), 383-389. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.01.046>.
- Hassan, A. N., Ipsen, R., Janzen, T., & Qvist, K. B. (2003). Microstructure and rheology of yogurt made with cultures differing only in their ability to produce exopolysaccharides. *Journal of Dairy Science*, 86(5), 1632-1638. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73748-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73748-5).
- Hu, Y., & Gänzle, M. G. (2018). Effect of temperature on production of oligosaccharides and dextran by *Weissella cibaria* 10 M. *International Journal of Food Microbiology*, 280, 27-34. <https://doi.org/10.1016/j.jifoodmicro.2018.05.003>.
- Hutchison, J. R., Brooks, S. M., Kennedy, Z. C., Pope, T. R., Kaiser, B. L. D., Victry, K. D., Warner, C. L., Oxford, K. L., Omberg, K. M., & Warner, M. G. (2019). Polysaccharide-based liquid storage and transport media for non-refrigerated preservation of bacterial pathogens. *PLOS ONE*, 14(9), e0221831. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0221831>.
- Imran, M. Y. M., Reehana, N., Jayaraj, K. A., Ahamed, A. A. P., Dhanasekaran, D., Thajuddin, N., Alharbi, N. S., & Muralitharan, G. (2016). Statistical optimization of exopolysaccharide production by *Lactobacillus plantarum* NTMI05 and NTMI20. *International Journal of Biological Macromolecules*, 93(Pt A), 731-745. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.09.007>.
- Kantachote, D., Nunkaew, T., Ratanaburee, A., & Klongdee, N. (2016). Production of a Meat Seasoning Powder Enriched with γ -Aminobutyric Acid (GABA) from Mature Coconut Water Using *Pediococcus pentosaceus* HN8. *Journal of Food Processing and Preservation*, 40(4), 733-742. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12654>.
- Kieliszek, M., Błażej, S., & Płaczek, M. (2016). Spectrophotometric evaluation of selenium binding by *Saccharomyces cerevisiae* ATCC MYA-2200 and *Candida utilis* ATCC 9950 yeast. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology: Organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, 35, 90-96. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.01.014>.
- Lee, S., Stubelius, A., Hamelmann, N., Tran, V., & Almutairi, A. (2018). Inflammation-Responsive Drug-Conjugated Dextran Nanoparticles Enhance Anti-Inflammatory Drug Efficacy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10(47), 40378-40387. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b08254>.
- Li, W., Ji, J., Rui, X., Yu, J., Tang, W., Chen, X., Jiang, M., & Dong, M. (2014). Production of exopolysacchari-

- des by *Lactobacillus helveticus* MB2-1 and its functional characteristics in vitro. *LWT - Food Science and Technology*, 59(2, Part 1), 732-739. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.063>.
- Li, Z., Han, L., Ji, Y., Wang, X., & Tan, T. (2010). Fermentative production of l-lactic acid from hydrolysate of wheat bran by *Lactobacillus rhamnosus*. *Biochemical Engineering Journal*, 49(1), 138-142. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2009.10.014>.
- López-Legarda, X., Taramuel-Gallardo, A., Arboleda-Echavarría, C., Segura-Sánchez, F., & Restrepo-Betancur, L. F. (2017). Comparación de métodos que utilizan ácido sulfúrico para la determinación de azúcares totales. *Revista Cubana de Química*, 29(2), 180-198.
- Luangsakul, N., Keeratipibul, S., Jindamorakot, S., & Tanasupawat, S. (2009). Lactic acid bacteria and yeasts isolated from the starter doughs for Chinese steamed buns in Thailand. *LWT - Food Science and Technology*, 42(8), 1404-1412. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.03.007>.
- Mengi, B., Ikeda, S., Murayama, D., Bochimoto, H., Matsumoto, S., Kitazawa, H., Urashima, T., & Fukuda, K. (2020). Factors affecting decreasing viscosity of the culture medium during the stationary growth phase of exopolysaccharide-producing *Lactobacillus fermentum* MTCC 25067. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 39(3), 160-168. <https://doi.org/10.12938/bmfh.2019-051>.
- Nachtigall, C., Vogel, C., Rohm, H., & Jaros, D. (2020). How Capsular Exopolysaccharides Affect Cell Surface Properties of Lactic Acid Bacteria. *Microorganisms*, 8(12). <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121904>.
- Pérez-Ramos, A., Mohedano, M. L., López, P., Spano, G., Fiocco, D., Russo, P., & Capozzi, V. (2017). In Situ β -Glucan Fortification of Cereal-Based Matrices by *Pediococcus parvulus* 2.6: Technological Aspects and Prebiotic Potential. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7). <https://doi.org/10.3390/ijms18071588>.
- Petry, S., Furlan, S., Crepeau, M.-J., Cerning, J., & Desmazeaud, M. (2000). Factors Affecting Exocellular Polysaccharide Production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* Grown in a Chemically Defined Medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(8), 3427-3431.
- Pham, P. L., Dupont, I., Roy, D., Lapointe, G., & Cerning, J. (2000). Production of exopolysaccharide by *Lactobacillus rhamnosus* R and analysis of its enzymatic degradation during prolonged fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6), 2302-2310. <https://doi.org/10.1128/aem.66.6.2302-2310.2000>.
- Rimada, P. S., & Abraham, A. G. (2001). Polysaccharide production by kefir grains during whey fermentation. *The Journal of Dairy Research*, 68(4), 653-661. <https://doi.org/10.1017/s0022029901005131>.
- Song, J., Jia, Y.-X., Su, Y., Zhang, X.-Y., Tu, L.-N., Nie, Z.-Q., Zheng, Y., & Wang, M. (2020). Initial Analysis on the Characteristics and Synthesis of Exopolysaccharides from *Sclerotium rolfsii* with Different Sugars as Carbon Sources. *Polymers*, 12(2), 348. <https://doi.org/10.3390/polym12020348>.
- Torino, M. I., Font de Valdez, G., & Mozzi, F. (2015). Biopolymers from lactic acid bacteria. Novel applications in foods and beverages. *Frontiers in Microbiology*, 6, 834. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00834>.
- Valerio, F., Bavaro, A. R., Di Biase, M., Lonigro, S. L., Logrieco, A. F., & Lavermicocca, P. (2020). Effect of Amaranth and Quinoa Flours on Exopolysaccharide Production and Protein Profile of Liquid Sourdough Fermented by *Weissella cibaria* and *Lactobacillus plantarum*. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00967>.
- Wang, M., & Bi, J. (2008). Modification of characteristics of kefir by changing the carbon source of *Lactobacillus kefirianofaciens*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(5), 763-769. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3136>.
- Wolter, A., Hager, A.-S., Zannini, E., Galle, S., Gänzle, M. G., Waters, D. M., & Arendt, E. K. (2014). Evaluation of exopolysaccharide producing *Weissella cibaria* MG1 strain for the production of sourdough from various flours. *Food Microbiology*, 37, 44-50. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.009>.
- Yang, Y., Feng, F., Zhou, Q., Zhao, F., Du, R., Zhou, Z., & Han, Y. (2018). Isolation, purification and characterization of exopolysaccharide produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* YF32 from soybean paste. *International Journal of Biological Macromolecules*, 114, 529-535. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.03.162>.
- Zajšek, K., Goršek, A., & Kolar, M. (2013). Cultivating conditions effects on kefir production by the mixed culture of lactic acid bacteria imbedded within kefir grains. *Food Chemistry*, 139(1-4), 970-977. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.142>.
- Zapata, P., Rojas, D., Fernández, C., Ramírez, D., Restrepo, G., Orjuela, V., Arroyave, M., Gómez, T., & Atehortúa, L. (2007). Producción de biomasa y exopolisacáridos de *Grifóla frondosa* bajo cultivo sumergido utilizando fuentes de carbono no convencionales. *Revista EIA*, 7, 137-144.
- Zhang, Y. U., Li, S., Zhang, C., Luo, Y., Zhang, H., & Yang, Z. (2011). Growth and exopolysaccharide production by *Lactobacillus fermentum* F6 in skim milk. *African Journal of Biotechnology*, 10(11), 2080-2091. <https://doi.org/10.4314/ajb.v10i11>.