



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

“Evaluación de las propiedades emulsificantes, espesantes y estabilizantes de los exopolisacáridos generados por *Leuconostoc mesenteroides* P45 mediante un sistema de electrofermentación”

TESIS DE POSGRADO

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Maestra en Ciencias y Tecnología de Alimentos

Presenta:

IIA. Mónica Itzel Rojas Rojas

Dirigido por:

Dr. Aldo Amaro Reyes

Codirector:

Dr. José Adelfo Escalante Lozada

Centro Universitario, Querétaro, Qro. Septiembre 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Evaluación de las propiedades emulsificantes,
espesantes y estabilizantes de los exopolisacáridos
generados por *Leuconostoc mesenteroides* P45
mediante un sistema de electrofermentación

por

Mónica Itzel Rojas Rojas

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: FQMAC-309139



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

Facultad de química

Maestría en ciencia y tecnología de los alimentos



“Evaluación de las propiedades emulsificantes, espesantes y estabilizantes de los exopolisacáridos generados por *Leuconostoc mesenteroides* P45 en un sistema de electrofermentación”

Tesis de posgrado

Que como parte de los requisitos para obtener el grado

Maestra en Ciencias y Tecnología de Alimentos

Presenta

IIA. Mónica Itzel Rojas Rojas

Dirigido por

Dr. Aldo Amaro Reyes

Dr. Aldo Amaro Reyes

Director

Dr. José Adelfo Escalante Lozada

Codirector

Dr. Carlos Regalado González Sinodal

Sinodal

Dra. Monserrat Escamilla García

Sinodal

Dra. Rocío Campos Vega

Sinodal

Dra. Silvia Lorena Amaya Llano
Directora de la Facultad de Química

Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y posgrado

Centro Universitario, Querétaro, Qro. Septiembre 2023

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE:

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

IIA. Mónica Itzel Rojas Rojas

DEDICATORIAS

A mi madre que me ha apoyado en todo camino, ha sabido guiarme por el camino de los buenos valores los cuales me han ayudado a seguir adelante y afrontar los momentos difíciles.

A mi padre que ha sabido motivarme y aconsejarme para seguir y continuar por un buen camino donde se me permita ser mejor cada día.

A mi hermano que me ha acompañado en cada momento y me ha apoyado incondicionalmente en cada aventura nueva.

AGRADECIMIENTOS

A CONAHCYT por la beca otorgada.

A todos mis sinodales por su ayuda y asesoramiento continuo, por su tiempo y disponibilidad para la realización de esta tesis.

A Dr. Aldo, por su dirección, ayuda, paciencia y disponibilidad para la realización de este trabajo.

Gracias a todos y cada uno por su respaldo a lo largo de estos años

Resumen

Las gomas son los aditivos más importantes en el procesamiento de alimentos ya que proporcionan propiedades emulsificantes, espesantes y estabilizantes. La mayoría de las gomas utilizadas en la industria alimentaria provienen de fuentes vegetales, animales o microbianas, sin embargo, su producción depende totalmente de la disponibilidad de la fuente y que el metabolismo de los microorganismos se ve limitado por la disponibilidad de electrones en el medio. La electrofermentación podría proporcionar electrones al medio modulando la producción de metabolitos microbianos. El objetivo del trabajo fue evaluar las propiedades emulsificantes, espesantes y estabilizantes de los exopolisacáridos obtenidos de *Leuconostoc mesenteroides* P45 por medio de un sistema de electrofermentación. Se determinó la correspondencia de biomasa y los exopolisacáridos producidos ante diferentes relaciones C/N (5-40) en el medio de cultivo. Se estimó la relación entre la aplicación de distintos voltajes y concentración de mediador (rojo neutro) sobre la producción de EPS por *L. mesenteroides* P45 en un sistema de electrofermentación. Se evaluaron las propiedades emulsificantes, espesantes y estabilizantes, así como estructurales de los EPS obtenidos de *L. mesenteroides* P45. La relación C/N que mostró mayor proporción de EPS respecto a la biomasa fue 40. El mayor rendimiento de goma (5.48 g dextrano/g biomasa) se obtuvo usando 1.4 V y 175 μ M de rojo neutro usando electrodos de acero inoxidable en el sistema de electrofermentación. El dextrano control obtuvo un 90 % de emulsificación frente al tratado con 10 %; en la capacidad espesante se obtuvo 16.92 cP (control) y 29.14 cP (tratamiento). En la capacidad estabilizante (efecto sinéresis), el control presentó mayor desprendimiento de agua (20.8 %) en comparación con el tratado (5.6 %). El poder de hinchamiento fue 27 % mayor en el dextrano tratado en comparación con el control. En el análisis de FT-IR el dextrano tratado no mostró grupos amidas II a diferencia del dextrano control. Se observó morfología laminar en el dextrano tratado y globular en el control. La aplicación de voltaje, magnetismo y un mediador, promovió la producción del dextrano por *L. mesenteroides* P45. El dextrano producido bajo el sistema de electrofermentación produjo cambios estructurales en el dextrano atribuyéndole características emulsificantes, espesantes y estabilizantes diferentes a la fermentación tradicional.

Palabras clave: Exopolisacáridos, relación C/N, electrofermentación, *Leuconostoc mesenteroides* P45, dextrano

Abstract

Gums are the most important additives in food processing as they provide emulsifying, thickening and stabilizing properties. Most of the gums used in the food industry come from vegetable, animal, or microbial sources, however, their production depends entirely on the availability of the source and the metabolism of microorganisms is limited by the availability of electrons in the medium. Electrofermentation could provide electrons to the medium by modulating the production of microbial metabolites. The objective of the work was to evaluate the emulsifying, thickening and stabilizing properties of the exopolysaccharides obtained from *Leuconostoc mesenteroides* P45 by means of an electrofermentation system. The correspondence of biomass and exopolysaccharides produced under different C/N ratios (5-40) in the culture medium was determined. The relationship between the application of different voltages and mediator concentration (neutral red) on EPS production by *L. mesenteroides* P45 in an electrofermentation system was estimated. The emulsifying, thickening and stabilizing properties, as well as the structural properties of the EPS obtained from *L. mesenteroides* P45 were evaluated. The C/N ratio that showed the highest proportion of EPS with respect to biomass was 40. The highest yield of gum (5.48 g dextran/g biomass) was obtained using 1.4 V and 175 μ M of neutral red using stainless steel electrodes in the electrofermentation. The control dextran obtained 90 % emulsification compared to the one treated with 10 %; in the thickening capacity, 16.92 cP (control) and 29.14 cP (treatment) were obtained. In the stabilizing capacity (syneresis effect), the control presented greater detachment of water (20.8 %) compared to the treated one (5.6 %). The swelling power was 27 % higher in the treated dextran compared to the control. In the FT-IR analysis, the treated dextran did not show amide II groups, unlike the control dextran. Lamellar morphology was observed in the treated dextran and globular in the control. The application of voltage, magnetism and a mediator promoted dextran production by *L. mesenteroides* P45. The dextran produced under the electrofermentation system produced structural changes in the dextran, giving it emulsifying, thickening and stabilizing characteristics different from traditional fermentation.

Keywords: Exopolysaccharides, C/N ratio, electrofermentation, *Leuconostoc mesenteroides* P45, dextran.

Abreviaturas y siglas

BAL: Bacteria ácido láctica

DS: Dextranacarasa

EF: Electrofermentación

EFS: Sistema de electrofermentación

EFSA: Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria

EPS: Exopolisacaridos

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos

GRAS: Generalmente reconocido como seguro

GTF: Glucosiltransferasa

HePS: Heteropolisacáridos

HoPS: Homopolisacáridos

IAA: Índice de absorción de agua

ISA: Índice de solubilidad en agua

SBE: Sistema bioelectroquímico

Contenido	
Resumen.....	v
Abstract	vi
Abreviaturas y siglas.....	vii
1. INTRODUCCIÓN	15
2. ANTECEDENTES.....	17
2.1 Gomas Alimenticias	17
2.2 Desventajas en la producción de gomas por fuentes tradicionales frente a las EPS	18
2.3 Ventajas en la producción de gomas por fuentes microbianas	18
2.4 Uso de gomas en los alimentos	19
2.5 Exopolisacáridos (EPS).....	19
2.6 <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	21
2.6.1 Producción de exopolisacáridos por la cepa <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45.....	23
2.6.2 Dextrano.....	24
2.7 Fermentación convencional	25
2.7.1 Metabolismo de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> en la producción de EPS.....	26
2.8 Electrofermentación	27
2.8.1 De fermentación convencional a electrofermentación	28
2.9 Electromagnetismo	28
3. JUSTIFICACIÓN.....	31
4. OBJETIVOS.....	32
4.1 General	32
4.2 Específicos.....	32

5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
5.1 Material biológico	33
5.2 Medios de cultivo empleados y activación de la cepa	33
5.3 Determinación de la correspondencia de biomasa y producción de exopolisacáridos ante diferentes relaciones C/N en el medio de cultivo.....	33
5.4 Sistemas de electrofermentación para <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45	34
5.5 Evaluación del rendimiento dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 en un sistema de electrofermentación utilizando electrodos de grafito y acero inoxidable.....	37
5.6 Caracterización del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45.....	37
5.6.1 Propiedad emulsificante del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45.....	38
5.6.2 Propiedad espesante del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45.....	38
5.6.3 Propiedad estabilizante del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45.....	39
5.6.4 Índice de absorción de agua (IAA) e índice de solubilidad en agua (ISA)	39
5.6.5 Poder de hinchamiento.....	40
5.6.6 Cuantificación de azúcares totales.....	40
5.6.7 Actividad enzimática.....	40
5.6.8 Análisis por espectroscopia FT-IR	40
5.6.9 Microscopia electrónica de barrido (SEM).....	41
5.6.10 Análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	41
5.6.11 Rayos X	41
6. DISEÑO EXPERIMENTAL	42

6.1 Tratamientos	42
6.1.1 Primera etapa.....	42
6.1.2 Segunda etapa	42
6.2 Análisis estadístico	42
7. RESULTADOS OBJETIVO 1. Determinación de la correspondencia de biomasa y exopolisacáridos producidos ante diferentes relaciones C/N (5-40) en el medio de cultivo.....	43
7.1 Curva de crecimiento de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45	43
7.2 Evaluación de la relación C/N sobre el crecimiento de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45.....	44
7.3 RESULTADOS OBJETIVO 2. Estimación de la relación entre la aplicación de distintos voltajes y concentración de mediador (rojo neutro) sobre la producción de exopolisacaridos por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 en un sistema de electrofermentación	46
7.3.1 Electrodo de grafito.....	48
7.3.2 Electrodo de acero inoxidable	48
7.3.3 Comportamiento del metabolismo celular en un sistema de electrofermentación	51
7.4 RESULTADOS OBJETIVO 3. Evaluación de las propiedades emulsificantes, espesantes y estabilizantes, así como las características físico químicas del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45.....	51
7.4.1 Propiedad emulsificante del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45.....	51
7.4.2 Propiedad espesante del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45.....	52
7.4.3 Propiedad estabilizante del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45.....	53

7.4.4 Índice de absorción de agua (IAA) e índice de solubilidad en agua (ISA)	56
7.4.5 Poder de hinchamiento	57
7.4.6 Dinámica de crecimiento del dextrano producido por electrofermentación magnética respecto a fermentación tradicional (control)	58
7.4.7 Actividad enzimática	59
7.4.8 Análisis de espectroscopia FT-IR	60
7.4.9 Microscopia electrónica de barrido (SEM)	62
7.4.10 Análisis calorimetría diferencial de barrido (DSC)	63
7.4.11 Rayos X	65
8. CONCLUSIONES Y PERPECTIVAS	66
9. REFERENCIAS	67

Tablas	Páginas
1 Fuente de hidrocoloides comercialmente importantes.....	17
2 Homopolisacáridos producidos por bacterias ácido-lácticas.....	20
3 Enzimas implicadas en el metabolismo de <i>Leuconostoc</i>	22
4 Importancia del dextrano en la panadería, heladería, repostería y laboratorio	25
5 Ejemplos de la aplicación de electrofermentación en diversos microorganismos..	27
6 Ejemplos de aplicación de campos electromagnéticos en diversos microorganismos	29
7 Fuentes de nitrógeno evaluadas en el medio de producción de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45	34
8 Absorbancia a 600 nm de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 crecida 24 h, a 30 °C y 130 rpm en medio Mayeux con diferentes fuentes de nitrógeno	44
9 Concentración de fuente de nitrógeno para obtener las relaciones molares C/N evaluadas en el medio de producción.....	45
10 Rendimiento de dextrano respecto a la biomasa de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 a las 16 h, 30 °C y 130 rpm utilizando electrodos de grafito y acero inoxidable en el sistema de electrofermentación	46
11 Resultados obtenidos en la evaluación de la capacidad espesante del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45.....	53
12 Capacidad estabilizante (sinéresis) del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 en almacenamiento a 4 °C	54
13 Índice de absorción de agua (AA) e índice de solubilidad en agua (ISA) del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45.....	56

Figuras	Páginas
1 Metabolismo general de <i>Leuconostoc</i> y sus principales productos	23
2 Síntesis y estructura química del dextrano	24
3 Esquema de los diversos fenómenos resultantes de la aplicación de campos electrostáticos generados por corriente continua en EF	28
4 Diseño de biorreactores de electrofermentación para <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 (A) grafito (B) acero inoxidable. En configuración electrofermentación (izquierda) y electrofermentación magnética (izquierda)	35
5 Esquematzación de la conexión de los biorreactores para la electrofermentación de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 en las configuraciones electrofermentación (A) y electrofermentación magnética (B) conectados a la fuente de poder directa	36
6 Absorbancia a 600 nm de <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 durante 10 h en caldo MRS. Resultados expresados como la \pm desviación estándar para cada muestra (n=3).....	43
7 Rendimiento en masa de dextrano por masa de biomasa producida por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 en diferentes relaciones molares C/N a las 24 h, 30 °C y 130 rpm en medio de producción. * Diferencia estadísticamente significativa mediante prueba de Tukey cuando $p < 0.05$ (n=3).....	45
8 Rendimiento de dextrano obtenido en presencia y ausencia del mediador rojo neutro * Diferencia estadísticamente significativa mediante prueba de Tukey cuando $p < 0.05$ (n=3)	49
9 Rendimiento en masa de dextrano por masa de biomasa producida por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 a las 15 h, 30 °C y 130 rpm en medio de producción Mayeux. *Diferencia estadísticamente significativa mediante prueba de Tukey cuando $p < 0.05$ (n=3)	50
10 Capacidad de emulsificación del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 mediante fermentación tradicional (control, A) y electrofermentación magnética (tratamiento, B)	52
11 Poder de hinchamiento del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 aplicando tratamiento (izquierda) y fermentación tradicional (derecha)	58

12 Dinámica de producción de dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 control y tratamiento (n=3).....	59
13 Actividad enzimática de la dextranasa a las 4 h, pH 5.5 a 30 °C control (fermentación tradicional) y tratamiento (electrofermentación magnética). * Diferencia estadísticamente significativa mediante prueba de Tukey cuando $p < 0.05$ (n=3)	60
14 FT-IR del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 control (fermentación tradicional) y tratamiento (electrofermentación magnética).....	61
15 Microscopia electrónica de barrido del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 por fermentación tradicional (izquierda) aumento x5.00k y electrofermentación magnética (derecha) aumento x5.00k	63
16 Análisis DSC del dextrano producido por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45 (A) control (B) tratamiento	64
17 Perfiles de difracción de los dextranos producidos por <i>Leuconostoc mesenteroides</i> P45. Control (fermentación tradicional) y tratamiento (electrofermentación magnética)	65

1. INTRODUCCIÓN

Una “goma” es un polisacárido que puede o no ser soluble en agua, estos pueden venir de distintos tipos de fuente como vegetales o bien microorganismos capaces de formar geles.

Todos y cada uno de estos polisacáridos han sido utilizados en gran diversidad de productos en la industria cosmética, farmacéutica, así como en el procesado de alimentos. Dentro de la industria alimenticia, estos polisacáridos proporcionan al menos tres funciones dentro de su procesamiento: emulsificantes, espesantes y estabilizantes, sin dejar de lado las demás cualidades que pueden proporcionar, cabe mencionar: gelificantes y formadoras de cuerpo. Por ende, dicho lo anterior, la industria alimentaria encuentra imprescindible el uso de las gomas en el procesamiento de alimentos, aprovechando sus propiedades físicas, que son específicas de acuerdo con lo que se pretende elaborar.

Dentro de la industria alimentaria cabe destacar la propiedad “estabilizante” la cual, aumentará el tiempo de almacenamiento de los alimentos, teniendo en cuenta las manipulaciones post procesado, como su almacenamiento, trasportación o manipulación. El estabilizante evita o retarda efectos indeseables en los alimentos que han sido procesados.

Si bien, se cuenta con gran número existente de estos polisacáridos, la creciente demanda de estas gomas empleadas en la industria exige a la par, una alta fabricación de estas, así como, explorar nuevos métodos para su fabricación, el cual, estará aportando una alternativa para la industria de los alimentos.

En la producción de polisacáridos a partir de microorganismos, específicamente de bacterias ácido-lácticas (BAL) considerados microorganismos de grado alimenticio o GRAS (generalmente reconocido como seguro, por sus siglas en inglés), se encuentra la puerta en la producción de exopolisacáridos (EPS), utilizando electrofermentación. La electrofermentación es un proceso novedoso en bioelectroquímica, en el cual, con el empleo de energía, se direccionará la vía metabólica para obtener el producto de interés (EPS) en *Leuconostoc mesenteroides* una BAL del cual se pueden obtener espesantes naturales.

Lo anterior brinda la posibilidad de aplicación de nuevos métodos para la obtención de productos de valor agregado como alternativas para la industria de alimentos.

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la capacidad emulsificante, espesante y estabilizante de los EPS producidos por la BAL *Leuconostoc mesenteroides* P45 mediante un sistema de electrofermentación, como alternativa a los polisacáridos existentes en la industria.

2. ANTECEDENTES

2.1 Gomas Alimenticias

La palabra goma tiene su origen en el término egipcio quemi o bien kami, el cual hace referencia a la forma en la que se obtiene esta, que es por la exudación pegajosa de la planta *Acanthus*. Si bien la implementación de gomas en los alimentos data de tiempos remotos y primeramente en alimentos hindúes, la palabra goma se adjudicó a todo aquel material el cual contara con propiedades espesantes, adhesivas y gelificantes. Para propósitos prácticos las gomas se han dividido en dos en tipos: solubles e insolubles en agua. Las primeras mejor conocidas a través del tiempo como “hidrocoloides” y las segundas en el sentido general conocidas como “resinas” (Phillips & Williams, 2009).

Los polisacáridos o hidrocoloides más importantes utilizados en la industria se pueden clasificar/agrupar en categorías como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1 Fuente de hidrocoloides comercialmente importantes

Botánica	
Árboles	Celulosa
Gomas exudadas de arboles	Goma arábica, goma karaya, goma gatti, goma tragacanto Almidón, pectina, celulosa
Plantas	
Semillas	Goma guar, goma de algarrobo, goma de tamarindo
Tubérculos	Konjac
Algas	
Alga roja	Agar, carragenina
Alga marrón	Alginato

Adaptado de Pasquel (2001)

2.2 Desventajas en la producción de gomas por fuentes tradicionales frente a las EPS

Las gomas comúnmente utilizadas en la industria alimentaria pueden ser obtenidas de diversas fuentes como exudados, semillas, modificación química de polisacáridos naturales y algas (Pasquel, 2001).

En el caso del grupo de gomas exudadas por árboles como la goma arábica, goma gatti, goma karaya y goma tragacanto dependen de la producción de estos árboles y varían entre 5 y 25 años para producirla incoloramente. El exudado “gomoso” de estos árboles es debido a la respuesta de heridas a nivel del tallo o remoción de ramas por lo que su producción depende de esta respuesta (Smith et al., 1998).

Existen algunas restricciones dentro del uso de las carrageninas a nivel comercial, ya que algunos estudios demostraron que el uso de esta causa úlceras en el intestino de cuyos y conejos, así como colitis en ratas, lo que está relacionado con la permeabilidad intestinal por la ingesta de este polisacárido, si bien continúa su estudio, el uso de esta goma en México este recomendado bajo “las buenas prácticas de manufactura” (Badui & Morales, 2006).

La producción biotecnológica de EPS ofrece ventajas sobre la producción química y la derivada de plantas, como la energía eficiente (en caso de algas), producción rápida en cuestión de días, independientemente de la ubicación y estación del año (Barcelos et al., 2020).

2.3 Ventajas en la producción de gomas por fuentes microbianas

Los polisacáridos bacterianos cuentan con propiedades diversas y únicas dentro de las aplicaciones en la industria alimentaria. Es debido a estas valiosas propiedades, que existe el constante estudio de estos microorganismos para genera nuevas variantes y mejorar su producción, así como ser sustituyentes de las gomas utilizadas comúnmente. Los polisacáridos bacterianos debido a su diversidad presentan un enorme espacio en el diseño para la producción de materiales y productos de alto valor añadido, así como la mención de que algunos EPS provenientes de BAL contienen actividad probiótica (Schmid et al., 2015).

De acuerdo con Zannini et al., (2012) demuestran la aplicación de los homopolisacáridos o HoPS (ej. dextrano) como alternativa en el mejoramiento de las propiedades viscoelásticas de masas, o bien como sustituto de la propiedad reológica que aporta el gluten, dando alternativas a la formulación y producción de alimentos libre de gluten. Algunos heteropolisacáridos o HePS (ej. xantana y gelano) de BAL (bacterias ácido-lácticas) comparten la capacidad de ser espesante en concentraciones bajas (Lacaze et al., 2007).

Además, la producción biotecnológica de los EPS representa una alternativa de utilizar residuos industriales como sustratos, lo que es una estrategia factible tras el estudio de los factores que podrían afectar o no el producto final deseable (Barcelos et al., 2020).

2.4 Uso de gomas en los alimentos

En la industria de los alimentos, se ha tenido un incremento notable en los últimos años el implemento de gomas. El uso de estas en alimentos tiene una influencia significativa en cuanto a la textura y propiedades organolépticas (Karababa & Coşkuner, 2013). Algunos productos que emplean hidrocoloides en su procesado declaran en su etiqueta el implemento de estas gomas.

El constante cambio en el estilo de vida ha llevado al desarrollo de nuevos productos, ya sea desarrollando alimentos “listos para comer” o bien productos bajos en contenido calórico, incrementando el uso de hidrocoloides y por ende su demanda. El uso de estos polisacáridos es dictado por la propiedad característica deseada, así como a su vez por el precio de estos (Pasquel, 2001).

2.5 Exopolisacáridos (EPS)

Los EPS son producidos por diversas bacterias, microalgas, hongos y levaduras (Amjres et al., 2015).

Las células bacterianas pueden sintetizar varios polisacáridos que se definen por su ubicación con respecto a la célula; algunos se encuentran dentro de las células en el citosol y son utilizadas como fuentes de carbono o energía en el metabolismo celular (Cerning, 1990).

Los EPS bacterianos pueden clasificarse en función de su composición química, HoPS haciendo referencia a un único tipo de monosacárido y HePS formado por dos o más tipos de monosacáridos. Estos polímeros de larga cadena y alto peso molecular son solubles en agua produciendo características de espesamiento, gelificación, emulsión, estabilización y formador de películas en la industria de los alimentos (Abid et al., 2018).

Las BAL productoras de HePS mejoran la viscosidad y la textura de leches fermentadas. Los HoPS se les atribuye el mejoramiento de propiedades viscoelásticas de masas ácidas, el cual podría ser utilizado como iniciadores para reducir el uso de hidrocoloides como aditivos que aportan textura en el área de la panadería (Zannini et al., 2012). En la Tabla 2 se presentan algunos ejemplos de HoPS producidos por BAL:

Tabla 2 Homopolisacáridos producidos por bacterias ácido-lácticas

EPS		BAL productora		
Glucanos	α -glucanos	Glucano	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	
		Mutano	<i>Streptococcus mutans</i> <i>S. salivarius</i> <i>L. mesenteroides</i> <i>Lb. reuteri</i>	
		Reuterano	<i>L. reuteri</i>	
		Dextrano	<i>L. mesenteroides</i> <i>L. reuteri</i> <i>Lb. Sakei</i> <i>Lb. fermentum</i> <i>Lb. parabucheri</i> <i>Lb. curvatus</i> <i>Lb. hilgardii</i>	
			Alternano	<i>L. mesenteroides</i>

β-glucanos	Glucano	<i>P. damnosis</i>
		<i>P. parvulus</i>
		<i>L. diolivorans</i>
		<i>Lb. suebicus</i>
		<i>Oenococcus oeni</i>
Fructanos	Inulina	<i>L. reuteri</i>
		<i>Lb. acidophilus</i>
	Levano	<i>L. reuteri</i>
		<i>Lb. sanfranciscensis</i>
		<i>S. salivaraeis</i>
		<i>S. mutans</i>
		<i>Lb. pontis</i>
		<i>Lb. frumenti</i>
		<i>Lb. panis</i>

Adaptado de Vázquez (2012)

Los α -glucanos pueden ser utilizados en la industria de los alimentos como gelificantes y espesantes, así como en aplicaciones nutritivas contando con la autorización de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) (Vázquez, 2012).

2.6 *Leuconostoc mesenteroides*

Leuconostoc mesenteroides es una bacteria ácido-láctica, aerobia, Gram positiva, no móvil y esférica (Hemme & Foucaud-Scheunemann, 2004). Pertenece a la especie de las BAL asociada a la fermentación y está dentro de los considerados GRAS (generalmente reconocido como seguro por sus siglas en inglés) (Dworkin et al., 2006) y se sabe que producen gran variedad de exopolisacáridos de grado alimenticio.

Entre muchos de los exopolisacáridos disponibles de fuentes microbianas, el dextrano es de los que ha se ha ganado el reconocimiento a nivel mundial debido a que la BAL *L. mesenteroides*, tiene la capacidad de producir dextrano soluble e insoluble en agua con una diversidad de propiedades (Dols et al., 1997). Ambos

dextranos (soluble o insoluble) han sido aprobados por la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos por sus siglas en inglés) para ser usados en alimentos, cosméticos y medicina (Prajapati et al., 2013).

Leuconostoc tiene la capacidad de sintetizar dextrano por función de la enzima dextransacarasa, una glucosiltransferasa extracelular (GTF) que transfiere la glucosa de la sacarosa presente en el medio, al extremo reductor de una cadena creciente de dextrano. La fructosa es liberada al interior de la capa peptoglicana, mientras que el dextrano es liberado fuera de la BAL (Naessens et al., 2005).

En la Figura 3 se puede observar el metabolismo general de las *Leuconostoc*, así como la formación de sus productos principales indicados en negrita, y los números corresponden a las enzimas implicadas a cada paso en la Tabla 3:

Tabla 3 Enzimas implicadas en el metabolismo de *Leuconostoc*

1	Dextransacarasa	11	α -acetoacetato sintasa
2	Manitol deshidrogenasa	12	Formación no enzimática
3	β -galactosidasa	13	Diacetil reductasa
4	Esterasa	14	Oxaloacetato descarboxilasa
5	NADH deshidrogenasa	15	Oxaloacetato deshidrogenasa
6	Alcohol deshidrogenasa	16	Citrato liasa
7	Fosfocetolasa	17	Malato deshidrogenasa
8	Fosfotransacetilasa	18	Formación de aspartato
9	α -acetoacetato descarboxilasa	19	Enzima manoláctica
10	Acetato quinasa	20	ATPasa

Adaptado de Hemme & Foucaud-Scheunemann (2004)

2.6.1 Producción de exopolisacáridos por la cepa *Leuconostoc mesenteroides* P45

De acuerdo con todo lo mencionado anteriormente la BAL *L. mesenteroides* es capaz de producir EPS. La cepa *L. mesenteroides* P45, aislada de la bebida tradicional mexicana llamada “pulque” en la investigación de Giles-Gómez et al., (2016) y al pertenecer a las bacterias BAL, sugiere tener el mismo potencial de producción de exopolisacáridos, en donde, las posibles alteraciones metabólicas para dicho fin no han sido evaluadas, pero si mencionadas en su investigación, formando parte de los objetivos de este trabajo.

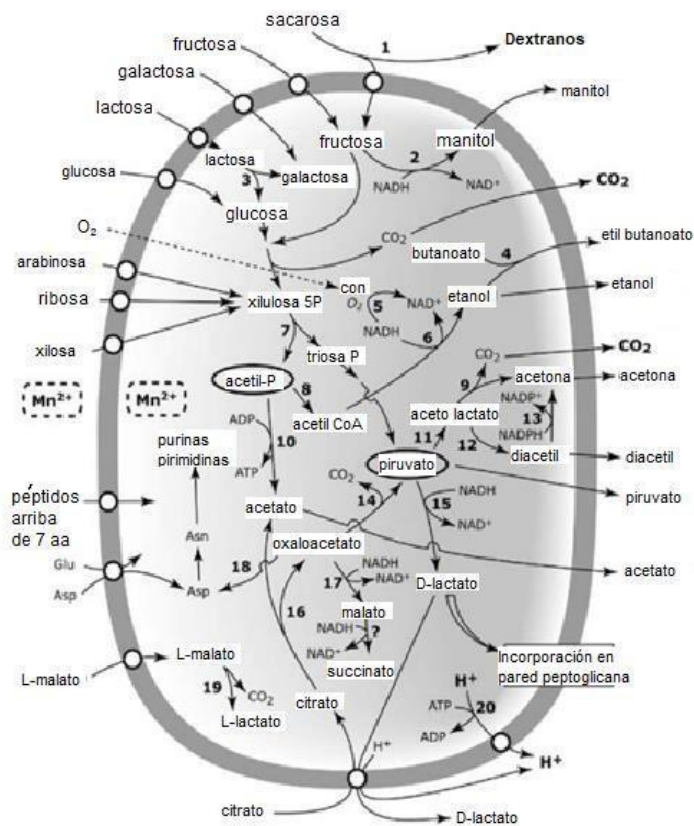


Figura 1 Metabolismo general de *Leuconostoc* y sus principales productos

Adaptado de Hemme & Foucaud-Scheunemann (2004)

2.6.2 Dextrano

El dextrano es un polisacárido bacteriano extracelular, este EPS es un metabolito resultante de la hidrólisis extracelular de la sacarosa por la dextransacarasa, enzima extracelular presente en diferentes cepas de los géneros *Weissella*, *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus* y *Lactobacillus*, cada cepa produce un dextrano único diferenciado por sus características fisicoquímicas y enlaces glicosídicos (Yáñez-Fernández et al., 2021).

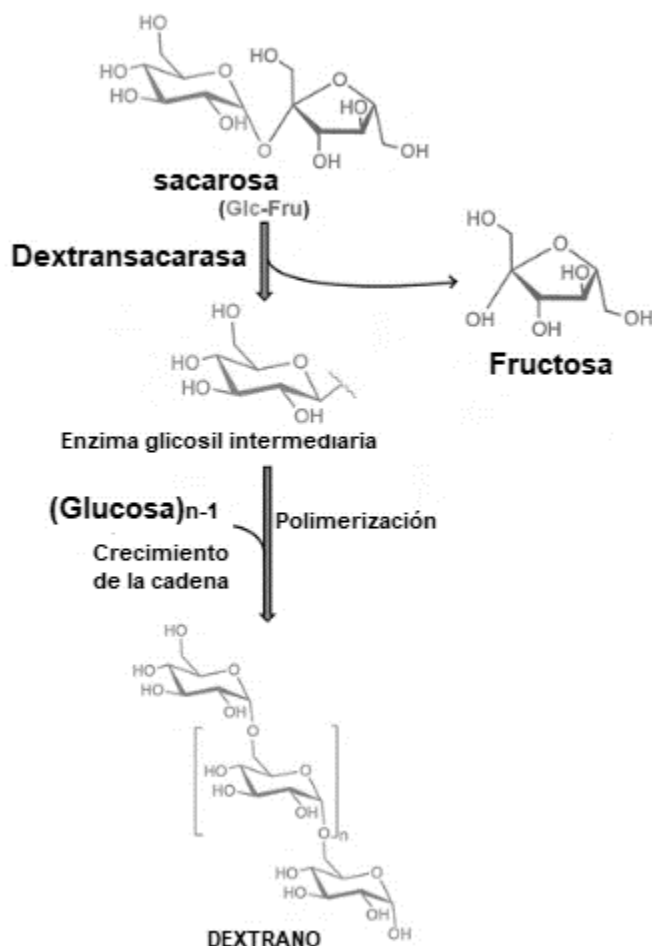


Figura 2 Síntesis y estructura química del dextrano

Adaptado de Kothari et al., (2014)

Leuconostoc mesenteroides contiene las enzimas invertasa y dextransacarasa, las cuales hidrolizan la sacarosa en glucosa y fructosa; y sintetizan el dextrano, respectivamente. El dextrano (Figura 2) producido contiene una gran variedad estructural y propiedades fisicoquímicas por lo que han recibido más atención debido al potencial de producción comercial (Naessens et al., 2005). La importancia del dextrano en las industrias de muestra en la Tabla 4.

Tabla 4 Importancia del dextrano en la panadería, heladería, repostería y laboratorio.

Área	
Panadería	Mejora las propiedades reológicas de los alimentos, dando suavidad, esponjado y textura.
Heladería	Usado como conservador de la textura, promueve el aroma los alimentos, mejoramiento de sabor, favorece la estabilidad del producto, beneficia la viscosidad.
Repostería	Estabilizador y aditivo anti- cristalización, mejoramiento de la retención de humedad, mejoramiento de viscosidad y sabor.
Laboratorio	Recubrimiento estabilizador de protección de nanopartículas metálicas de la oxidación y mejoramiento de biocompatibilidad.

Adaptado de Vázquez (2012)

2.7 Fermentación convencional

La fermentación es un proceso biotecnológico aplicado desde la antigüedad para la transformación de materias primas con el fin de elaborar y conservar alimentos. Cuando se habla de fermentación, se debe entender como la acción de microorganismos (bacterias, hongos o levaduras) sobre diversos sustratos biológicos, es decir aprovechar la actividad metabólica de aquellos a fin de obtener una transformación favorable de las materias primas para la obtención de alimentos procesados (Reiter et al., 2021).

Este proceso metabólico genera energía en el cual tanto los donadores como los aceptores de electrones son compuestos orgánicos (Watanabe et al., 2019). El proceso puede ser modificado con el fin de obtener el producto deseado cambiando nutrientes o bien someterlo a un tipo de estrés. En los últimos siglos, mediante las fermentaciones se han desarrollado diversos antibióticos, medicamentos, ácidos y combustibles, entre otros productos empleados en la industria (Garibay et al., 1993). Dentro de los principales parámetros que afectan las vías fermentativas abarcan el tipo de microorganismo inoculado, tipo de medio, pH y temperatura, siendo fermentaciones limitadas, así como su producto (Moscoviz et al., 2016).

2.7.1 Metabolismo de *Leuconostoc mesenteroides* en la producción de EPS

Como se comentó anteriormente *Leuconostoc mesenteroides* se desarrolla en medios con sacarosa, ya que el dextrano no puede ser producido por la dextransacarasa a partir de glucosa o mezclas de glucosa y fructosa, la sacarosa es absolutamente necesaria, durante estos cultivos de sacarosa, una gran fracción de esta se convierte fuera de la célula en dextrano, y la fructosa entra a la célula como combustible energético (Naessens et al., 2005).

La enzima clave para la síntesis del dextrano es la dextransacarasa (DS), (o bien glucansacarasa) estas son excretadas y ancladas a la pared celular y canalizan la transferencia de glucosa de la sacarosa presente en el medio a una cadena creciente de α -glicósidos (Schmid et al., 2015).

Se ha debatido sobre su mecanismo enzimático, sobre la iniciación y elongación de esta cadena. Aportando pruebas sobre que la elongación se produce en el extremo reductor, lo que llevó a proponer la participación de dos sitios nucleófilos, donde esta cadena de crecimiento permanece unida a la enzima y se transfiere desde el sitio a la fracción de glucosa unida y viceversa (Robyt et al., 2008).

Las últimas investigaciones han demostrado el potencial de la ingeniería enzimática para adaptar nuevas transglucosidasas que utilizan sacarosa y dan acceso a estructuras basadas en carbohidratos en este caso EPS y así la alternativa del uso de gomas convencionales en la industria (Barcelos et al., 2020).

2.8 Electrofermentación

Un sistema de electrofermentación (EFS) puede definirse como un sistema bioelectroquímico (SBE) en el que se controla la fermentación introduciendo electrodos, así el metabolismo de los microorganismos puede controlarse obteniendo productos con mayor pureza, favorecer el crecimiento, así como la densidad de las células microbianas (Schievano et al., 2016).

La electrofermentación (EF) es un proceso novedoso que fusiona la fermentación tradicional con la electroquímica. En donde un campo eléctrico que se ha impuesto influirá en el entorno de fermentación, ya sea de forma reductora u oxidativa (Moscoviz et al., 2016).

La EF supera algunas de las limitaciones presentes en la fermentación tradicional, por lo que se espera un mejor manejo en el control de las fermentaciones microbianas, aumentando su especificidad en las rutas metabólicas (Schievano et al., 2016). En la Tabla 5 se presentan ejemplos de aplicación de un sistema de electrofermentación, así como el producto obtenido.

Tabla 5 Ejemplos de la aplicación de electrofermentación en diversos microorganismos

Microorganismo	Potencial de trabajo electrostático (V)	Resultados	Referencia
<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	0.2	Incremento del 35 % en la producción de Butirato respecto 0 V	Choi et al., (2012)
<i>Escherichia coli</i>	0.2	Incremento del consumo de glicerol respecto 0 V	Sturm-Richter et al., (2015)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3, 10 y 15	Incremento del 12.30 % de etanol a 15 V	Mathew et al., (2015)

2.8.1 De fermentación convencional a electrofermentación

Una de las principales limitaciones dentro de la fermentación utilizada tradicionalmente (aparte de la actividad microbiana) está asociada al equilibrio de sus equivalentes redox entre sustratos y productos dando como resultado productos de fermentaciones limitadas. Una solución a esta limitación es la EF, modificando el estado redox intracelular de las bacterias bioelectroquímicamente activas, eliminando así, esta restricción en la fermentación (Figura 3).

La EF ha buscado en la investigación básica, una nueva visión futurista y sostenible aprovechando la energía para generar bioproductos de valor agregado (Venkata Mohan et al., 2016).

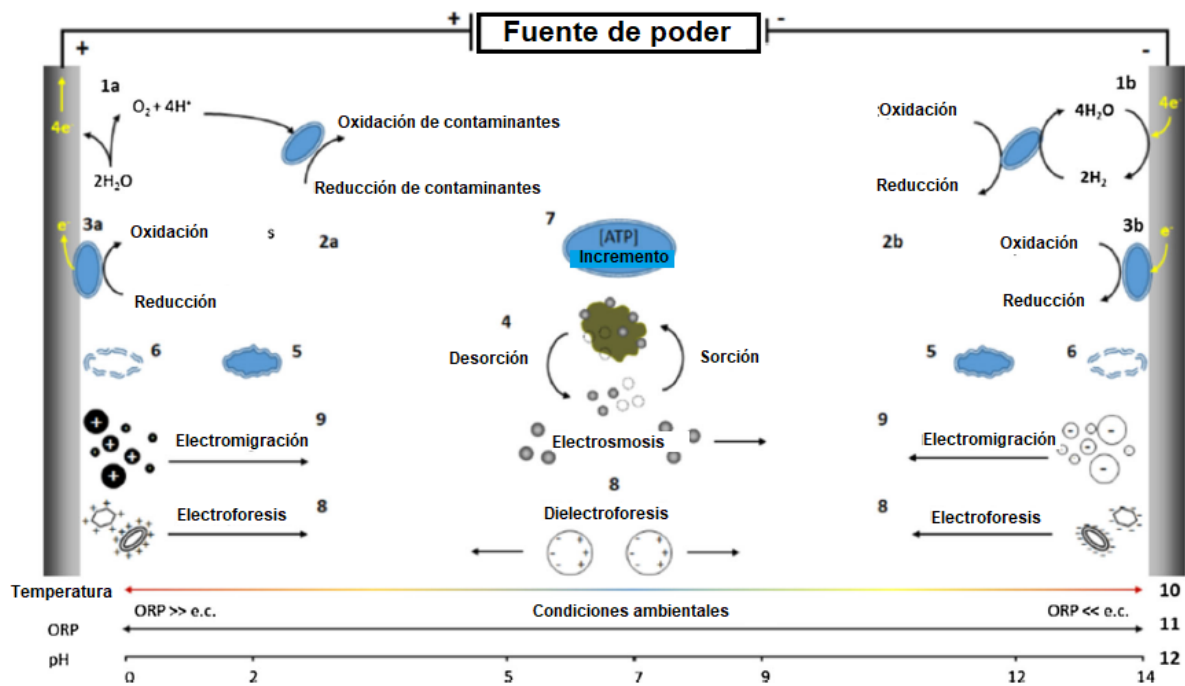


Figura 3 Esquema de los diversos fenómenos resultantes de la aplicación de campos electrostáticos generados por corriente continua en EF

Adaptado de Beretta et al., (2019)

2.9 Electromagnetismo

La exposición a campos electromagnéticos presentes en la EF puede tener efectos tanto positivos como negativos en la actividad celular. Estos hallazgos pueden tener

importantes implicaciones en el campo de la biotecnología. La literatura científica disponible sobre los efectos de los campos electromagnéticos en microorganismos examina críticamente la divergencia de resultados que a veces se encuentra en dichos efectos biológicos (Beretta et al., 2019).

Algunos de los estudios realizados (Tabla 6) han demostrado que, en ciertas circunstancias, la exposición a campos electromagnéticos puede tener un efecto positivo al mejorar la actividad celular en lugar de reducirla. Estos hallazgos pueden tener aplicaciones importantes en el campo de la biotecnología, incluyendo el desarrollo de técnicas biológicas (Fijałkowski et al., 2015).

Tabla 6 Ejemplos de aplicación de campos electromagnéticos en diversos microorganismos

Microorganismo	Potencial de trabajo electromagnético	Resultados	Referencia
<i>E. coli</i> DH5 α	0.2 T	Tasa de crecimiento y el número máximo de bacterias se reducen	Zhang et al., (2002)
<i>E.coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	30 mT durante 1 h	Aumenta el crecimiento y la actividad metabólica celular de <i>E. coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> en comparación con los controles	Rakoczy et al., (2016)
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	50 mT	Favorece el uso de fenol en un 33 %	Pospíšilová et al., (2015)

Si bien, la investigación sobre los efectos de campos electromagnéticos en microorganismos es muy limitada, se han empleado microorganismos modelo bien caracterizados, con marcadores genéticos implementadas en investigaciones para así obtener una mejor comprensión de los mecanismos de acción de los campos.

Algunos de estos estudios han demostrado que en ciertas situaciones, la exposición a campos electromagnéticos sí puede tener un efecto positivo al mejorar la actividad celular en lugar de reducirla, lo que podría tener implicaciones aplicativas significativas en el campo de la biotecnología (Beretta et al., 2019).

3. JUSTIFICACIÓN

Llevar una vida más saludable y la reciente preocupación de los consumidores de saber el origen de lo que consumen, que cada vez va en aumento, ha llevado a la investigación a centrarse en la producción de EPS no tóxicos y a su vez “verdes”, por ejemplo, la producción de alginatos se centra en la constante recolección de materia prima de los océanos o en caso de otras gomas utilizadas comúnmente, los exudados de árboles.

Los exopolisacáridos presentan una alternativa a las gomas comúnmente utilizadas, sin embargo, su costo producción es elevado, debido a la implementación de glucosa como fuente de carbono, problemática que puede solucionarse seleccionando fuentes de carbono más económicas como sustratos agroindustriales, por ejemplo, la melaza; residuo de la cristalización final del azúcar.

Considerando el origen de las gomas tradicionalmente empleadas en la industria alimentaria, así como la demanda de los consumidores por el desarrollo de nuevos productos adaptables a sus necesidades y ritmo de vida, como la creciente preocupación de los mismos consumidores por saber el origen de lo que consumen, es imprescindible encontrar la manera de mantener productos con características deseables para ellos como la aprobación de los ingredientes que lo conforman.

Por lo cual el presente trabajo busca ofrecer alternativas al uso de gomas empleadas tradicionalmente, así como sustitutos o bien alternativas de otros aditivos considerados alérgenos, empleando una BAL en un sistema de electrofermentación con el objetivo de la producción de EPS, y de esta manera ofreciendo las mismas propiedades que las gomas ofrecen tradicionalmente utilizadas en los alimentos, pero distinto origen y mencionando enteramente que los EPS de las BAL forman parte de los microorganismos GRAS.

4. OBJETIVOS

4.1 General

Evaluar las propiedades emulsificantes, espesantes y estabilizantes de los exopolisacáridos obtenidos de *Leuconostoc mesenteroides* P45 por medio de un sistema de electrofermentación.

4.2 Específicos

1. Determinar la correspondencia de biomasa y los exopolisacáridos producidos ante diferentes relaciones C/N (5-40) en el medio de cultivo.
2. Estimar la relación entre la aplicación de distintos voltajes y concentración de mediador (rojo neutro) sobre la producción de exopolisacáridos por *Leuconostoc mesenteroides* P45 en un sistema de electrofermentación.
3. Evaluar las propiedades emulsificantes, espesantes y estabilizantes, así como las características físico químicas de los exopolisacáridos obtenidos de *Leuconostoc mesenteroides* P45.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Material biológico

La bacteria ácido-láctica (BAL) que se empleó en este trabajo fue la cepa *Leuconostoc mesenteroides* P45, donada por el Dr. Adelfo Escalante Lozada del Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México a la planta piloto de Biotecnología de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro. La cepa se mantuvo en crioconservación en una solución de glicerol 20 % v/v y caldo MRS al 80 % a una temperatura de -70 °C.

5.2 Medios de cultivo empleados y activación de la cepa

Se empleó caldo MRS (g/L) para la activación de la BAL: 20 dextrosa, 10 peptona bacteriológica, 8 extracto de carne, 5 acetato de sodio, 4 extracto de levadura, 2 fosfato dipotásico, 2 citrato de amonio, 1 Tween 80, 0.20 sulfato de magnesio, 0.05 sulfato de manganeso, a un pH 6.8.

El medio Mayeux modificado se utilizó como medio de producción (g/L): 100 sacarosa, 15 fuente de nitrógeno ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 , NaNO_3) (Tabla 7), 5 glucosa y 1 citrato de sodio a un pH de 6.8.

La activación de la cepa se realizó utilizando 200 μL de una conserva de *L. mesenteroides* P45, la cual fue cultivada en 3 mL de caldo MRS e incubada a 30 °C durante 4 horas, manteniendo un pH aproximado de 5.0-5.5 y una agitación de 180 rpm, hasta que se alcanzó una unidad de absorbancia a 600 nm (medida con equipo Thermo Fisher Scientific, MA, EUA).

5.3 Determinación de la correspondencia de biomasa y producción de exopolisacáridos ante diferentes relaciones C/N en el medio de cultivo

Las diferentes fuentes de nitrógeno (Tabla 7) fueron evaluadas para determinar su efecto sobre la producción de biomasa de *L. mesenteroides* P45 midiendo la absorbancia del medio de producción a las 24 h, 30 °C y 130 rpm. Se seleccionó la fuente de nitrógeno con mayor absorbancia en el medio de producción para evaluar el efecto de la relación molar C/N 5, 10, 20 y 40 sobre el rendimiento de exopolisacáridos respecto a la biomasa. La fuente de carbono en el medio de

producción se mantuvo fija en 100 g/L y la fuente de nitrógeno se varió en masa para obtener las relaciones molares indicadas.

Tabla 7 Fuentes de nitrógeno evaluadas en el medio de producción de *L. mesenteroides* P45

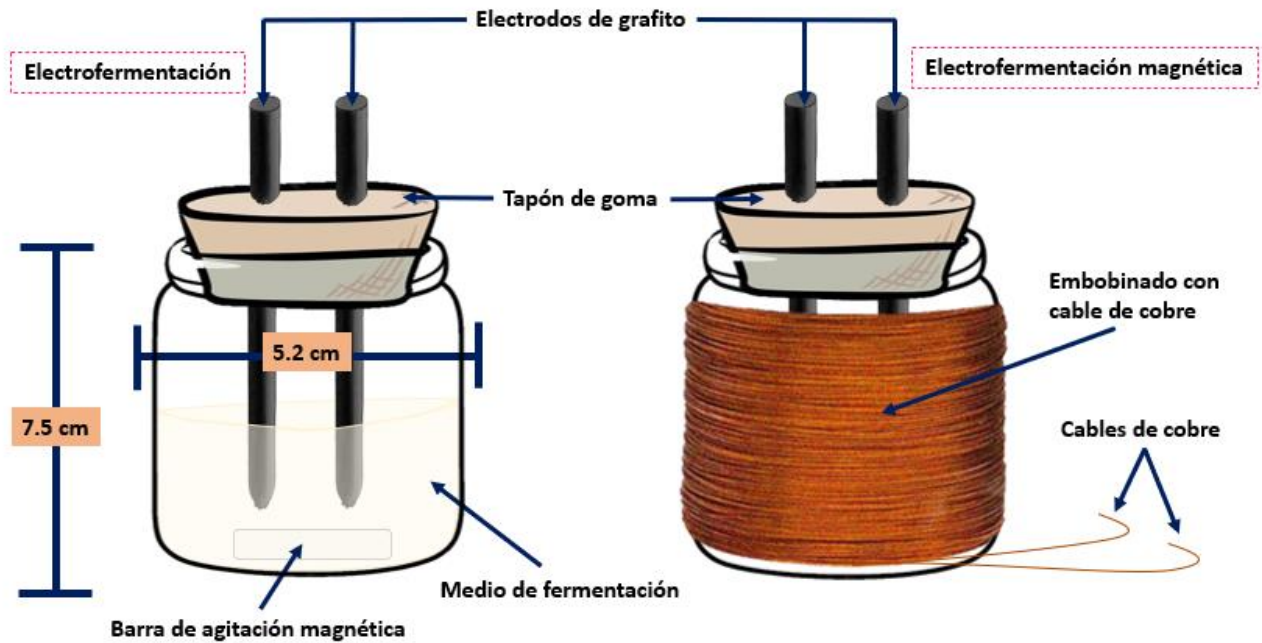
Medio	Fuente de N
Mayeux	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$
	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
	NH_4NO_3
	NaNO_3

5.4 Sistemas de electrofermentación para *Leuconostoc mesenteroides* P45

El sistema de electrofermentación se llevó a cabo en un recipiente de vidrio de 5.2 x 7.5 cm de 100 mL de capacidad conteniendo 50 mL de medio de fermentación inoculado con la BAL *L. mesenteroides* P45 con la adición de rojo neutro como mediador redox. Implementando dos configuraciones electrofermentación y electrofermentación magnética (Figura 4).

El sistema de electrofermentación (SEF) constó de dos configuraciones una denominada electrofermentación y otra como electrofermentación magnética. La configuración de electrofermentación consistió en un par de electrodos de 11 cm de longitud como cátodo y ánodo sumergidos en el medio de fermentación. A la configuración de electrofermentación magnética se le adicionó un embobinado de 300 vueltas con cable de cobre aislado calibre 24 al biorreactor de la configuración electrofermentación. Cada uno de los extremos tanto de los electrodos, así como del embobinado fueron conectados a una fuente de poder (GW Instek modelo GPS-3030DD, MA, EUA) en corriente continua mediante caimanos, respectivamente, tal como se muestra en la Figura 5.

A



B

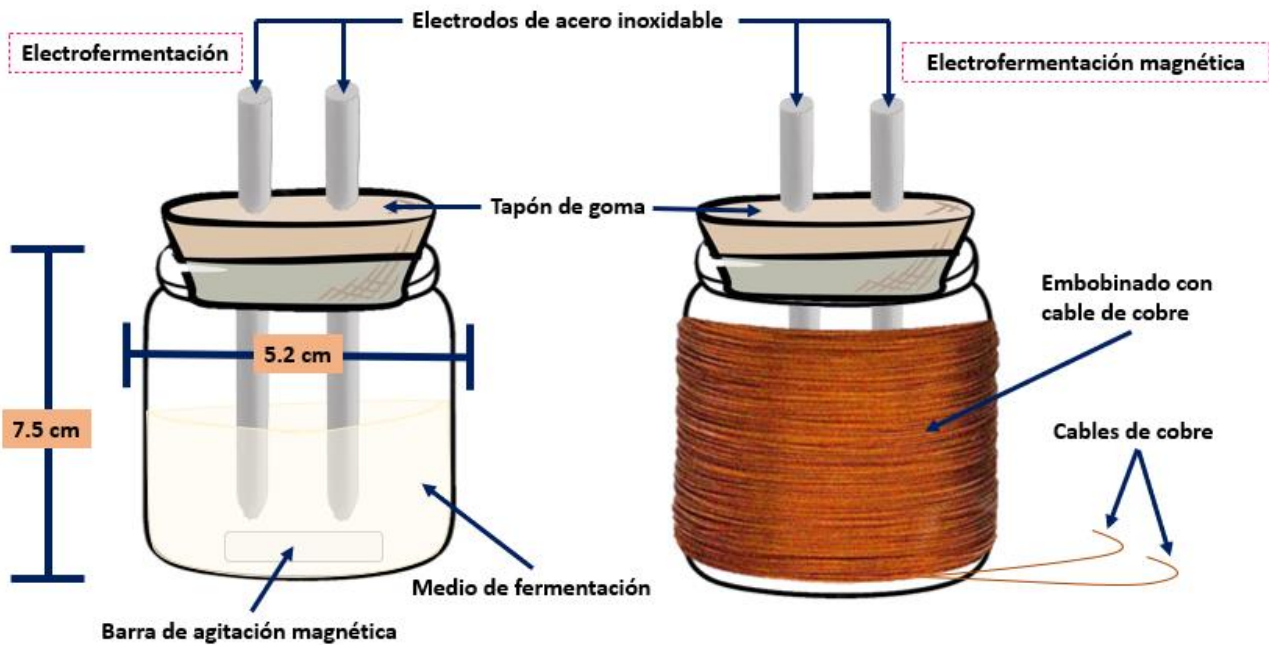


Figura 4 Diseño de biorreactores de electrofermentación para *Leuconostoc mesenteroides* P45 (A) grafito (B) acero inoxidable. En configuración electrofermentación (izquierda) y electrofermentación magnética (izquierda)

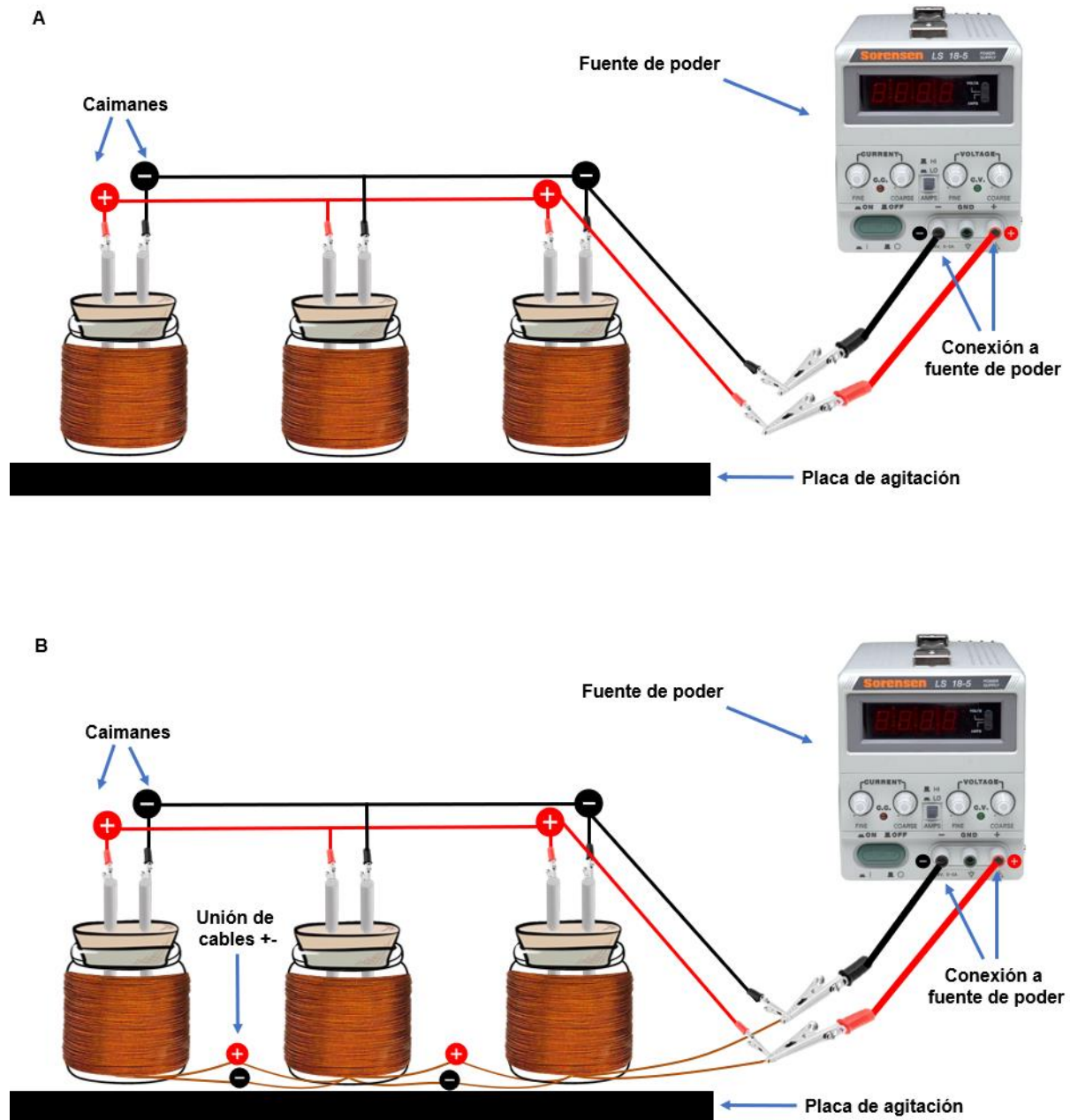


Figura 5 Esquematización de la conexión de los biorreactores para la electrofermentación de *Leuconostoc mesenteroides* P45 en las configuraciones electrofermentación (A) y electrofermentación magnética (B) conectados a la fuente de poder directa

5.5 Evaluación del rendimiento dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45 en un sistema de electrofermentación utilizando electrodos de grafito y acero inoxidable

La evaluación del rendimiento de dextrano se realizó en tres voltajes (0.4, 0.9 y 1,4 V) y dos tipos de electrodos de 11 cm y materiales distintos (grafito y acero inoxidable) así como diferentes concentraciones de rojo neutro (25, 100, 175 μ M). Los biorreactores se conectaron en dos configuraciones electrofermentación el cual consistió en la conexión solamente entre electrodos (ánodo y cátodo) y electrofermentación magnética haciendo referencia a conexión entre electrodos y a su vez la conexión de los cables sueltos de cobre del embobinado del biorreactor para generar el campo magnético, lo anterior, con ayuda de caimanes conectados a una fuente de poder (GW Instek modelo GPS-3030DD, MA, EUA) usando corriente eléctrica directa, como se muestra en la Figura 5.

Todos los tratamientos se mantuvieron durante 16 h tomándose muestras de 20 mL cada hora para evaluar el pH inicial y final, así mismo, fueron comparados con sus respectivos controles.

Para evaluar el funcionamiento del sistema en el metabolismo de *L. mesenteroides* P45, se cuantificó la producción de dextrano respecto a la biomasa con el fin de comparar su comportamiento en las condiciones ya mencionadas en comparación a una fermentación tradicional (sin rojo neutro y sin voltaje).

5.6 Caracterización del dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45

La caracterización de las propiedades emulsificantes, espesantes y estabilizantes, así como las estructurales de cada uno de los ensayos incluyendo la actividad enzimática de dextransacarasa, espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR), microscopía electrónica de barrido (SEM), calorimetría diferencial de barrido (DSC) y difracción de rayos X. Estos análisis se realizaron al dextrano producido bajo las condiciones que condujeron el mayor rendimiento en masa de dextrano respecto a la biomasa y al dextrano producido por fermentación tradicional.

5.6.1 Propiedad emulsificante del dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45

La propiedad emulsificante se realizó según lo reportado por Yáñez-Fernández (2021). Consistió en mezclar una solución de dextrano (control y tratamiento) (1 g en 25 mL de agua) con 25 mL de aceite puro de soya comercial utilizando un homogeneizador (Ultra Turrax T25 Basic, Ika, Staufen, Alemania) a 13,500 rpm durante 5 min y posteriormente centrifugarlo a 1,000 rpm durante 15 min. La altura de la capa emulsificada se midió con una regla graduada y la capacidad emulsionante se expresó en porcentaje de acuerdo con la Ecuación 1:

$$\text{Capacidad emulsificante} = \left[\left(\frac{He}{Hw} \right) * 100 \right] \quad (1)$$

Donde *He* es la altura de la capa emulsificada y *Hw* es la altura de toda la capa en el tubo.

5.6.2 Propiedad espesante del dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45

La capacidad espesante se evaluó mediante la Ley de Poiseuille, la cual, esta relaciona el caudal con la viscosidad y la caída de presión para un flujo de fluido viscoso fluyendo por un tubo capilar (Ecuación 2).

Para ello se aplicó un flujo de una suspensión al 2 % p/v del dextrano control (obtenido por fermentación tradicional) y tratamiento a través de un capilar de 1.6 m de longitud y 2 mm de radio. El tubo se colocó en un ángulo de 60 ° sobre un recipiente conteniendo el fluido para posteriormente ser succionado. Una vez en el extremo superior, se registró el tiempo que tarda el líquido en recorrer una determinada distancia en caída libre por acción de la gravedad (Rodríguez Llegado & Cjuno H, 2020).

Finalmente, la actividad espesante se obtendrá aplicando la Ecuación de Poiseuille.

$$V = \frac{\pi Pr^4}{8nl} \quad (2)$$

Donde: V es velocidad de flujo; P es presión ejercida por el fluido del capilar; r es radio transversal interno del capilar; n la viscosidad del fluido y l es longitud del capilar.

5.6.3 Propiedad estabilizante del dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45

La propiedad estabilizante se realizó mediante la determinación del efecto sinéresis (separación de fases) según lo reportado por Singh et al., (2007). Se preparó dextrano al 2 % p/v en agua destilada y se calentó a 90 °C por 30 min a baño maría en agitación constante, después se enfrió rápidamente hasta 25 °C empleando un baño helado. Las muestras se almacenaron durante 7 días a 4 °C. Se evaluaron los cambios en los días 1, 2, 3, 4 y 7. Para el día 7, las muestras se dejaron a temperatura ambiente durante 1 h, transcurrido el tiempo se centrifugaron a 3,000 rpm por 15 min. La cantidad de agua liberada se expresará como porcentaje de la masa de la muestra.

5.6.4 Índice de absorción de agua (IAA) e índice de solubilidad en agua (ISA)

Para el IAA e ISA, se determinó modificando cantidades de acuerdo con lo reportado por Ekielski et al., (2020), se pesó 1 g de dextrano en 10 mL de agua destilada, este se mantuvo en reposo durante 1 h, posteriormente las muestras se centrifugaron a 4,000 rpm durante 15 min. Se anotó el aumento del peso del gel decantado y el sobrenadante se vertió en un platillo de aluminio y se secó a 104 °C hasta peso constante para de la determinación del ISA.

El IAA se calculó como el aumento de peso del sedimento (dextrano) tras decantar el sobrenadante con la Ecuación 3:

$$IAA = \frac{\text{Peso del sobrenadante húmedo}}{\text{Peso del sedimento seco}} \quad (3)$$

El índice de solubilidad (ISA) se determinó con la Ecuación 4:

$$ISA \% = \frac{\text{Peso del sobrenadante seco}}{\text{Peso de la muestra seca}} \quad (4)$$

5.6.5 Poder de hinchamiento

Para determinar el poder de hinchamiento se utilizó el método reportado por Raghavendra et al., (2006). Para la determinación del poder de hinchamiento se tomó 1 g de dextrano producido (control y tratamiento) en 10 mL de agua destilada dejando en reposo durante 2 horas a temperatura ambiente posteriormente las muestras se pesaron. El poder de hinchamiento se expresó en porcentaje.

5.6.6 Cuantificación de azúcares totales

Los azúcares totales se determinaron por el método de Dubois (método fenol-sulfúrico) mezclando 2 mL de muestra con 2 mL de fenol al 5 % p/v utilizando tubos digestores colocando una gradilla sumergida en agua a 4 °C. Posteriormente a los tubos se les agregará 5 mL de H₂SO₄ y un reposo de 15 min para ser analizados por espectrofotómetro a 490 nm (Núñez et al., 2012).

5.6.7 Actividad enzimática

De acuerdo con la información de la cinética de crecimiento de *L. mesenteroides* P45 en el medio de producción Mayeux, se tomaron muestras de 20 mL en la mitad de la fase exponencial. Posteriormente cada muestra se centrifugó a 4,400 rpm por 20 min para obtener las células. La fracción del sobrenadante se llevó a 70 % p/v de saturación con sulfato de amonio reservando durante 24 h a 4°C. El precipitado obtenido se centrifugó a 4 °C a 8,000 rpm durante 15 min y se resuspendió en 2 mL del amortiguador de acetato de sodio para obtener el extracto enzimático. La actividad enzimática de la fracción precipitada se determinó cuantificando los azúcares reductores (Miller, 1959). La reacción enzimática contuvo 450 µL de sacarosa (277 mM) en el amortiguador de acetato de sodio (50 mM, pH 5.5) como sustrato y 50 µL del extracto enzimático, se incubó a 30 °C durante 10 min.

En este caso, una unidad de actividad se definió como la cantidad de enzima que cataliza la formación de 1 µmol de glucosa por min a 30 °C en un amortiguador de acetato de sodio (50 mM, pH 5.5).

5.6.8 Análisis por espectroscopia FT-IR

Los grupos funcionales del dextrano obtenido de *L. mesenteroides* P45 se analizaron mediante espectros FT-IR (Tensor 27, Bruker, Alemania). Se mezcló 1

mg de polvo seco de dextrano y se mezcló con 100 mg de bromuro de potasio. Se registraron los espectros FT-IR de las muestras en un rango de frecuencias de 400-4000 cm^{-1} y a una relación de resolución de 1 cm^{-1} .

5.6.9 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Las imágenes SEM del dextrano producido se estudiaron utilizando un escaneo de alto vacío microscopio electrónico (JEOL, JSM-6060LV a alto vacío; Jeol, Tokio-Japón) con una resolución en modo HV. La muestra fue recubierta con oro y se fijó en un porta muestras con cinta de carbón. Las condiciones de análisis utilizaron 20 kV voltaje de aceleración de electrones a una presión de 12–20 Pa.

5.6.10 Análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Las muestras se analizaron utilizando un calorímetro diferencial de barrido (Mettler Toledo, Greifensee, Suiza). La calibración se realizó utilizando un estándar de indio. Las bandejas conteniendo 4.6 mg de muestra se sellaron herméticamente usando una prensa. La exploración de la muestra fue de -20 ° a $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

5.6.11 Rayos X

Los patrones de difracción de rayos X del dextrano producido se realizaron en un difractómetro Rigaku-Ultima 4 (Rigaku Miniflex, Texas, EUA). Las condiciones fueron (radiación CuK , $\lambda = 0.54\text{ }^{\circ}\text{A}$) operando a 45 kV y 40 mA. Las regiones de escaneo estaban en un 2 rango de $3\text{--}35$. El grado de cristalinidad (%) de las muestras se calcularon utilizando la Ecuación (5). La separación e integración de las áreas bajo la radiografía cristalina y amorfa se realizaron picos de difracción.

$$\text{Cristalinidad (\%)} = \left(\frac{A}{A+B} \right) * 100 \quad (5)$$

Donde A es la intensidad integrada de la fase cristalina y (A+B) es el área total del difractograma.

6. DISEÑO EXPERIMENTAL

6.1 Tratamientos

6.1.1 Primera etapa

Un diseño unifactorial se utilizó para evaluar tanto el efecto del tipo de fuente de nitrógeno sobre la producción de biomasa como la relación molar de carbono/nitrógeno sobre el rendimiento en masa de dextrano respecto a la biomasa. Los factores fueron la de fuente de nitrógeno $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3 y NaNO_3 y la relación carbono/nitrógeno 5, 10, 20 y 40; las variables de respuesta fueron la producción de biomasa medida en unidades de absorbancia a 600 nm y el rendimiento en masa de dextrano respecto a la biomasa, respectivamente.

6.1.2 Segunda etapa

Se utilizó un diseño factorial completo en donde los factores fueron voltaje (0.4, 0.9 y 1.4 V), tipo de electrodo (grafito y acero inoxidable) y la concentración del mediador rojo neutro (25, 100 y 175 μM). La variable de respuesta fue el rendimiento en masa de dextrano respecto a la biomasa. Como controles se realizaron fermentaciones utilizando el mismo biorreactor, tradicional sin voltaje sin rojo neutro, con voltaje sin rojo neutro, con rojo neutro sin voltaje.

6.2 Análisis estadístico

Las determinaciones se realizaron por triplicado y fueron reportadas como la media de los ensayos \pm desviación estándar. A los datos se le realizaron análisis de varianza, así como la comparación de medias por la prueba de Tukey ($p < 0.05$) mediante el programa Minitab software 16.2.4 (PA, USA).

7. RESULTADOS OBJETIVO 1. Determinación de la correspondencia de biomasa y exopolisacáridos producidos ante diferentes relaciones C/N (5-40) en el medio de cultivo

7.1 Curva de crecimiento de *Leuconostoc mesenteroides* P45

Se realizaron experimentos previos para conocer las fases de crecimiento de *L. mesenteroides* P45 en caldo MRS y así determinar la estrategia de activación e inoculación de la cepa. Para la curva de crecimiento de *L. mesenteroides* P45 se emplearon 200 μ L de una cepa conservada, la cual fue inoculada en caldo MRS durante 10 h, en donde, cada hora se realizó la lectura de la absorbancia de las muestras a 600 nm. *L. mesenteroides* P45 mostró crecimiento exponencial desde la primera hora, para posteriormente entrar a fase estacionaria como se observa en la Figura 6.

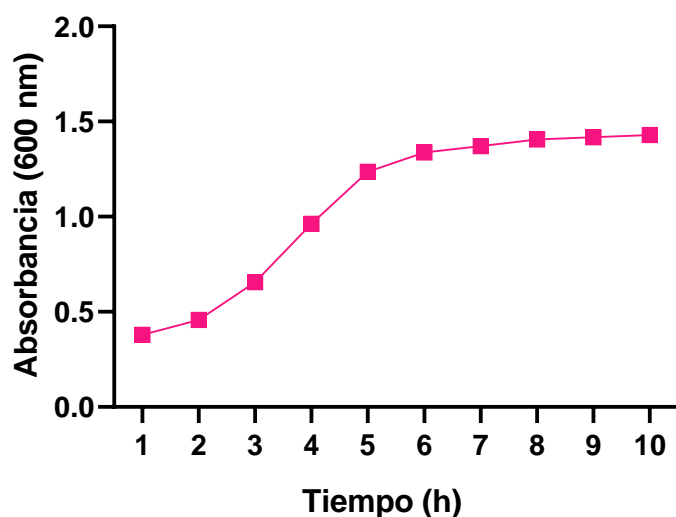


Figura 6 Absorbancia a 600 nm de *Leuconostoc mesenteroides* P45 durante 10 h en caldo MRS. Resultados expresados como la \pm desviación estándar para cada muestra (n= 3)

El crecimiento de *L. mesenteroides* P45 es comparable según lo reportado por Venkata Mohan et al., (2016), en donde la cepa *L. mesenteroides* NCIB 8023 también inicio su fase exponencial después de una hora de acondicionamiento. Para

la cepa *L. mesenteroides* NRRL B-512 se requirieron 7 h de acondicionamiento antes de expresarse la fase exponencial y 16 h para la fase estacionaria; para *L. mesenteroides* NRRL B512-F transcurrieron 3 h de acondicionamiento extendiéndose hasta la hora 12 para su fase estacionaria (Dharmik & Narkhede, 2020). Cabe destacar que la cepa *L. mesenteroides* NRRL B512-F es utilizada para la producción a escala comercial de dextrano.

7.2 Evaluación de la relación C/N sobre el crecimiento de *Leuconostoc mesenteroides* P45

La relación C/N sobre el crecimiento de *L. mesenteroides* P45 se evaluó a las 24 h midiendo la absorbancia de las muestras a 600 nm cuando se crecieron utilizando cuatro fuentes de nitrógeno distintas en medio Mayeux, inoculado con *L. mesenteroides* P45 a las 24 h, a 30 °C y 130 rpm (Tabla 8).

Tabla 8 Absorbancia a 600 nm de *Leuconostoc mesenteroides* P45 crecida 24 h, a 30 °C y 130 rpm en medio Mayeux con las diferentes fuentes de nitrógeno evaluadas.

Fuente de nitrógeno	Absorbancia a 600 nm (UA)
Ca(NO ₃) ₂	0.948 ± 0.08
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.001 ± 0.08*
NH ₄ NO ₃	0.945 ± 0.06
NaNO ₃	1.105 ± 0.10*

* Diferencia estadísticamente significativa mediante prueba de Tukey cuando $p < 0.05$ (n=3). UA (unidades de absorbancia)

De acuerdo con la Tabla 8, el mayor crecimiento, estadísticamente significativo ($p < 0.05$), medido por absorbancia (UA) se obtuvo utilizando NaNO₃ y (NH₄)₂SO₄ con 1.105 ± 0.10 y 1.001 ± 0.08, respectivamente. Cuando se utilizó Ca(NO₃)₂ y NH₄NO₃ se obtuvieron valores del 90 % de la absorbancia máxima.

Una vez establecida la fuente de nitrógeno que mostró mayor crecimiento de *L. mesenteroides* P45, se fijó la concentración de carbono (100 g/L) (Tabla 9) y se

varió la concentración de NaNO_3 para evaluar diferentes relaciones molares (5, 10, 20, 40) sobre el rendimiento en masa de goma/biomasa (Figura 7). Las condiciones de crecimiento fueron en fermentación tradicional (sin voltaje y sin rojo neutro) a 30 °C y 130 rpm en medio Mayeux.

Tabla 9 Concentración de fuente de nitrógeno para obtener las relaciones molares C/N evaluadas en el medio de producción.

Relación molar C/N	Sacarosa		NaNO_3	
	Concentración (g/L)	Cantidad de sustancia (mol)	Concentración (g/L)	Cantidad de sustancia (mol)
5	100	3.48	60	0.70
10			30	0.35
20			15	0.17
40			7.5	0.09

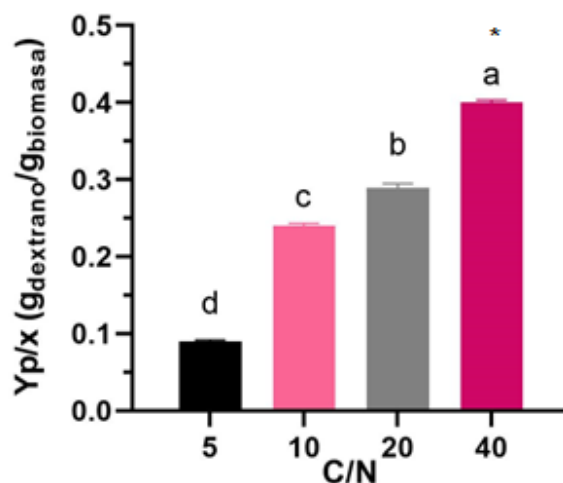


Figura 7 Rendimiento en masa de dextrano por masa de biomasa producida por *Leuconostoc mesenteroides* P45 en diferentes relaciones molares C/N a las 24 h, 30 °C y 130 rpm en medio de producción. * Diferencia estadísticamente significativa mediante prueba de Tukey cuando $p < 0.05$ (n=3)

Se observó una máxima producción de dextrano de $0.44 \text{ g}_{\text{dextrano}}/\text{g}_{\text{biomasa}}$ en 50 mL a las 24 h a una temperatura de 30 °C en fermentación tradicional (sin rojo neutro y sin voltaje) con una relación C/N de 40.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por Yang et al., (2018), quienes lograron una producción de $0.25 \text{ g}_{\text{dextrano}}/\text{g}_{\text{biomasa}}$ utilizando la cepa *L. pseudomesenteroides* YF32, así como con el trabajo de Yang et al. (2019), en el cual se alcanzó una producción de $0.49 \text{ g}_{\text{dextrano}}/\text{g}_{\text{biomasa}}$ utilizando la cepa *L. citreum*. Es relevante destacar que, en este último estudio, los autores utilizaron el medio complejo MRS el cual contiene sacarosa como fuente de carbono; peptona, extracto de carne y extracto de levadura como fuente de nitrógeno en el medio de fermentación. La relación C/N ha sido estudiada como un factor crucial para la producción de EPS, y es determinante en el tipo de EPS que se produce (Ates, 2015).

7.3 RESULTADOS OBJETIVO 2. Estimación de la relación entre la aplicación de distintos voltajes y concentración de mediador (rojo neutro) sobre la producción de exopolisacaridos por *Leuconostoc mesenteroides* P45 en un sistema de electrofermentación

En la Tabla 10 se presenta el rendimiento de dextrano con respecto a la biomasa producida por *L. mesenteroides* P45. Los experimentos se llevaron a cabo a un pH inicial de 6.8 y terminaron con un pH de 3.9 a lo largo de 16 horas, a una temperatura de 30 °C y una velocidad de agitación de 130 rpm. Estos ensayos se realizaron bajo la influencia de voltaje y rojo neutro, en dos configuraciones del sistema de electrofermentación (SEF): electrofermentación y electrofermentación magnética. Además, se utilizaron electrodos tanto de grafito como de acero inoxidable.

Tabla 10 Rendimiento de dextrano respecto a la biomasa de *Leuconostoc mesenteroides* P45 a las 16 h, 30 °C y 130 rpm utilizando electrodos de grafito y acero inoxidable en el sistema de electrofermentación

Electrodo	Rojo neutro (μM)	Electrofermentación		Electrofermentación magnética
		Voltaje (V)	Yp/x (g _{dextrano} /g _{biomasa})	Yp/x (g _{dextrano} /g _{biomasa})
Grafito	25	0.4	0.7303 ± 0.034	1.8320 ± 0.906
		0.9	2.0435 ± 0.181	2.8833 ± 0.553
		1.4	0.5712 ± 0.010	1.4525 ± 0.613
	100	0.4	0.4214 ± 0.098	1.9424 ± 1.473
		0.9	1.2149 ± 0.177	2.3826 ± 0.557
		1.4	0.7056 ± 0.040	1.3501 ± 0.152
	175	0.4	1.0813 ± 0.229	4.3320 ± 1.696
		0.9	1.7554 ± 0.336	2.9256 ± 1.125
		1.4	0.9701 ± 0.362	0.9701 ± 0.362
Acero inoxidable	25	0.4	3.7215 ± 0.466	1.8641 ± 0.949
		0.9	1.8032 ± 0.480	1.3634 ± 0.063
		1.4	4.5248 ± 0.726	3.8087 ± 0.703
	100	0.4	2.1868 ± 0.323	0.8308 ± 0.074
		0.9	1.3998 ± 0.198	1.2335 ± 0.034
		1.4	2.4725 ± 0.530	3.3547 ± 0.476
	175	0.4	2.7974 ± 0.686	0.7383 ± 0.109
		0.9	1.2183 ± 0.412	1.9496 ± 0.715
		1.4	3.4175 ± 0.367	5.4819 ± 0.351*

*Diferencia estadísticamente significativa mediante prueba de Tukey cuando $p < 0.05$ (n=3). Resultados expresados como la ± desviación estándar para cada muestra

7.3.1 Electroodos de grafito

De acuerdo con los resultados presentados en la Tabla 10, los tratamientos realizados con electrodos de grafito a concentraciones de 25 y 100 μM de rojo neutro no revelaron diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p < 0.05$), mostrando un rango de $1.5 \text{ g}_{\text{dextrano}}/\text{g}_{\text{biomasa}}$ en ambas configuraciones (electrofermentación y electrofermentación magnética). Al emplear una concentración de 175 μM de mediador rojo neutro se observó una mayor variabilidad en los resultados obtenidos. Se destacó que a un voltaje más bajo (0.4 V) se registraron los rendimientos más elevados, con $4.3320 \pm 1.696 \text{ g}_{\text{dextrano}}/\text{g}_{\text{biomasa}}$ mientras que se evidenció una disminución en el rendimiento de dextrano a voltajes superiores.

7.3.2 Electroodos de acero inoxidable

En relación con los resultados obtenidos con el uso de electrodos de acero inoxidable en la configuración electrofermentación utilizando una concentración de 25 μM de rojo neutro, se observó el rendimiento más bajo a 0.9 V ($1.2149 \pm 0.177 \text{ g}_{\text{dextrano}}/\text{g}_{\text{biomasa}}$), mientras que se obtuvo un rendimiento más alto al emplear 1.4 V ($4.5248 \pm 0.726 \text{ g}_{\text{dextrano}}/\text{g}_{\text{biomasa}}$).

En el caso de cambiar a la configuración electrofermentación magnética con una concentración de 175 μM de rojo neutro, se observó una variación notable en los rendimientos extremos (0.4 y 1.4 V). El menor rendimiento se obtuvo a 0.4 V ($0.7383 \pm 0.109 \text{ g}_{\text{dextrano}}/\text{g}_{\text{biomasa}}$), mientras que el rendimiento más alto fue a 1.4 V ($5.4819 \pm 0.351 \text{ g}_{\text{dextrano}}/\text{g}_{\text{biomasa}}$).

Si bien, la concentración de rojo neutro en alguno de los tratamientos realizados reveló rendimientos más altos, a su vez, es notable que, al aumentar el voltaje con la disminución de la concentración de rojo neutro, mostró una correlación positiva sobre el rendimiento de la producción de dextrano por *L. mesenteroides* P45.

En la Figura 8 se presentan los rendimientos obtenidos en diferentes condiciones: el control (fermentación tradicional), SR (sin rojo), 1.4 V y 175 μM SV (sin voltaje). Se puede observar que el voltaje en el medio de fermentación ejerce influencia en la producción de dextrano. Además, se aprecia que el rojo neutro disminuye la

capacidad de producción de dextrano cuando no se aplica voltaje en el sistema. Esto sugiere que *L. mesenteroides* P45 es electroactiva, es decir, tiene la capacidad de tomar electrones del electrodo que actúa como reservorio (cátodo) sin requerir un mediador exógeno para este propósito, como se expone en el estudio de Moscoviz et al., (2016).

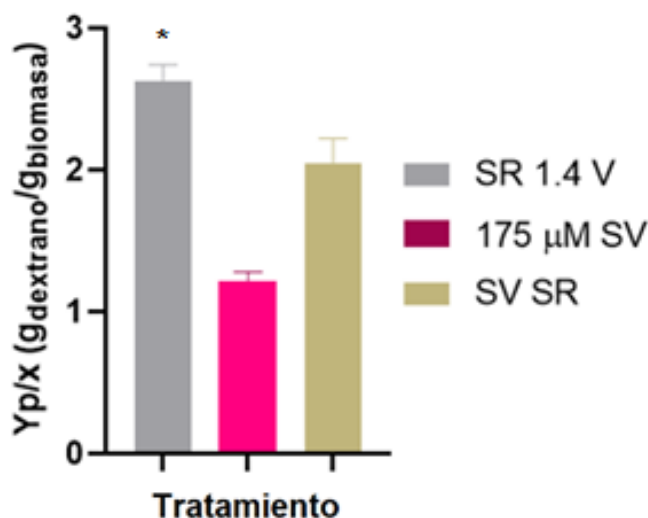


Figura 8 Rendimiento de dextrano obtenido en presencia y ausencia del mediador rojo neutro SR (sin rojo) SV (sin voltaje) * Diferencia estadísticamente significativa mediante prueba de Tukey cuando $p < 0.05$ ($n=3$)

El factor que tuvo el mayor impacto en el sistema de electrofermentación demostró ser el material del electrodo, lo cual resultó altamente significativo. Esta diferencia se hizo evidente al comparar los tratamientos a 175 µM, 1.4 V y en la configuración electrofermentación magnética. Se observó que, al utilizar electrodos de acero inoxidable, el rendimiento de dextrano fue más de tres veces superior en comparación con el uso de electrodos de grafito, si bien utilizando 0.4 V, 175 µM y electrodos de grafito se observaron rendimientos altos, estos fueron descartables debido a la inestabilidad del sistema al utilizar esta configuración. Por lo tanto, se confirma que la utilización de acero inoxidable a voltajes elevados fomenta la producción de dextrano, como se muestra en la Figura 9.

Si bien no existen aún artículos reportando cultivos de electrofermentación empleando a *L. mesenteroides* o alguna otra BAL, existen trabajos previos en donde sí se reporta la eficiencia del uso de electrofermentaciones para el mejoramiento en cuanto al rendimiento de producción en otras bacterias.

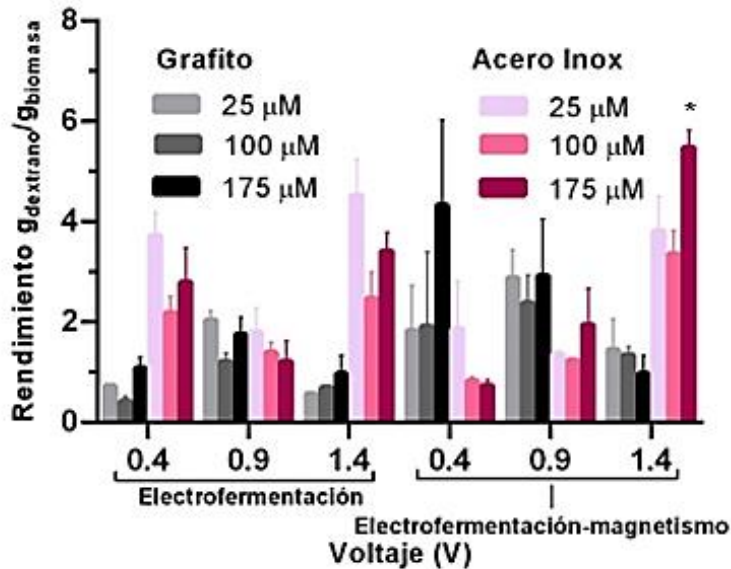


Figura 9 Rendimiento en masa de dextrano por masa de biomasa producida por *Leuconostoc mesenteroides* P45 a las 15 h, 30 °C y 130 rpm en medio de producción Mayeux. *Diferencia estadísticamente significativa mediante prueba de Tukey cuando $p < 0.05$ (n=3)

De acuerdo con lo reportado por Choi et al., (2014), al emplear *Clostridium pasteurianum* DSM 525 en un entorno de electrofermentación anódica con electrodos de grafito a 0.045 V, se observó una disminución en la producción de butirato, mientras que el rendimiento de butanol se incrementó en más del doble respecto el control. Por otro lado, en un estudio realizado por Qu et al., (2018) utilizando un campo de densidad de flujo magnético de 7,0 mT instigó tanto la desorción de Cr (VI) como el crecimiento de *Geotrichum* sp. en una prueba de columna de suelo respecto su control.

Además, Mathew et al., (2015), al trabajar con *Saccharomyces cerevisiae*, reportaron un aumento del 20 % en el rendimiento de la producción de bioetanol al utilizar electrodos de grafito y aplicar 15 V respecto su control.

7.3.3 Comportamiento del metabolismo celular en un sistema de electrofermentación

Existen diferentes comportamientos que los electrones pueden experimentar en sistemas de electrofermentación, como se ha informado en el estudio de Moscoviz et al., (2016). Uno de estos comportamientos es la transferencia directa de electrones o la transferencia a través de mediadores redox. Esta electrofermentación puede alterar la fuerza motriz de los protones y provocar modificaciones en varias proteínas de la membrana, lo que a su vez podría alterar su función. Se puede suponer que este proceso benefició la producción de EPS en *L. mesenteroides* P45, además de posiblemente ocasionar cambios morfológicos y estructurales en el polímero.

En el caso particular de *S. cerevisiae*, Rawson et al., (2014), al aplicarle electrofermentación, mencionaron una familia de proteínas en la pared celular denominadas proteínas trans de transporte de electrones de membrana plasmática (tPMET). Estas proteínas podrían estar estrechamente vinculadas con la recepción de los electrones para dirigirlos hacia los citocromos localizados en la mitocondria. No obstante, los mecanismos subyacentes aún no están del todo claros.

7.4 RESULTADOS OBJETIVO 3. Evaluación de las propiedades emulsificantes, espesantes y estabilizantes, así como las características físico químicas del dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45

7.4.1 Propiedad emulsificante del dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45

Según los resultados obtenidos en relación con la propiedad emulsificante del dextrano producido por *L. mesenteroides* P45, se observó que la muestra tratada con electrofermentación magnética presentó un porcentaje de emulsificación 9 veces menor en comparación con el dextrano producido por fermentación tradicional (control). Este último exhibió una emulsión del 90 % (Figura 10).

Delikanli & Ozcan (2017) señalan que debido a la ausencia de enlaces proteína-agua y a la formación en mayor cantidad de enlaces proteína-EPS, se creará una red de gel compacta que impedirá la migración del agua. La reducción en la capacidad emulsificante de la muestra tratada podría estar relacionada con la ausencia de proteínas asociadas a las cadenas del dextrano.

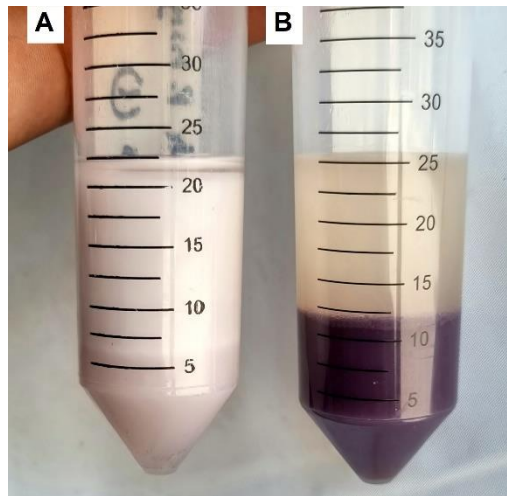


Figura 10 Capacidad de emulsificación del dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45 mediante fermentación tradicional (control, A) y electrofermentación magnética (tratamiento, B)

7.4.2 Propiedad espesante del dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45

De acuerdo con los resultados obtenidos en la propiedad espesante del dextrano producido por *L. mesenteroides* P45. La muestra tratada presentó 1.72 veces mayor capacidad espesante respecto al control (Tabla 11).

Tabla 11 Resultados obtenidos en la evaluación de la capacidad espesante del dextrano producido por *L. mesenteroides* P45

Muestra	Viscosidad (cP)
Control	16.92 ± 0.001
Tratamiento	29.14 ± 0.001*

* Diferencia estadísticamente significativa mediante prueba de Tukey cuando $p < 0.05$ (n=3)

Debido a su estructura química, el dextrano tiene la capacidad de absorber y retener agua en su matriz molecular. Esto lo convierte en un material hidrofílico, lo que significa que muestra afinidad por el agua y puede formar geles (Wang et al., 2016).

A raíz de esta característica, se plantea un cambio estructural en el dextrano tratado mediante electrofermentación magnética. En esta modificación, su capacidad para interactuar con las moléculas de agua se intensifica, lo que le permite absorber y retener una cantidad aún más significativa de agua en comparación con el control. Este proceso podría dar lugar a la formación de geles con un mayor potencial de hinchamiento, lo que a su vez incrementaría su capacidad como agente espesante.

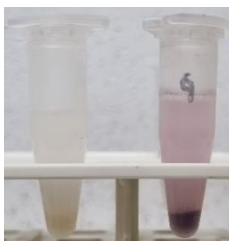
7.4.3 Propiedad estabilizante del dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45

La capacidad estabilizante (sinéresis) del dextrano producido por *L. mesenteroides* P45 en fermentación tradicional (derecha) y electrofermentación (izquierda) se muestran en la Tabla 12.

Tabla 12 Propiedad estabilizante (sinéresis) del dextrano producido por *L. mesenteroides* P45 en almacenamiento a 4 °C

Día	Observaciones
<p data-bbox="365 390 386 422">1</p> 	<p data-bbox="540 495 1338 585">Consistencia homogénea (100 %), sin precipitaciones ni separación de fases. Gel estable.</p>
<p data-bbox="365 711 386 743">2</p> 	<p data-bbox="540 762 1385 909">Consistencia homogénea (90 %), se observaron precipitaciones, no presentó desprendimiento de líquido (agua). Gel estable.</p>
<p data-bbox="365 1026 386 1058">3</p> 	<p data-bbox="540 1077 1385 1224">Se observó precipitación en ambas muestras, sin embargo, el gel se mantuvo estable, no hay presencia de desprendimiento de líquido. El gel se mantiene estable.</p>
<p data-bbox="365 1379 386 1411">4</p> 	<p data-bbox="540 1430 1385 1577">Se observó un aclarado en ambos geles, sin ningún aumento en la precipitación. El gel se mantiene estable y no se produce desprendimiento de agua.</p>

5



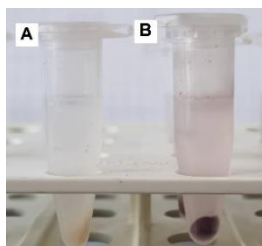
No se detectaron alteraciones en la estabilidad del gel. No se observó ningún desprendimiento de agua ni aumento en la precipitación. La consistencia del gel se mantuvo constante.

6



No hubo liberación de agua y la precipitación se detuvo. La consistencia del gel se mantuvo constante.

7



Transcurrido los días establecidos para esta prueba, las muestras se centrifugaron. Una vez centrifugadas la muestra control (A) presentó un desprendimiento de agua mayor (20.8 %) respecto a la tratada (B) (5.6 %).

En ambos dextranos (control y tratado) se mantuvo la estabilidad, en el caso del dextrano control, mostró una estabilidad de 7.9 veces menor comparada con la muestra tratada. Resultados comparables con lo reportado por Purama et al., (2009), quienes reportan que el uso de dextrano en la formulación de un yogurt resultó en un 30 % de sinéresis a diferencia de su control, el cual presentó una sinéresis mayor (59.6 %).

Los sistemas de retención de agua tienden a experimentar un cambio en su estructura y pueden mostrar liberación de agua, ya sea debido a fluctuaciones de temperatura o durante el almacenamiento. Este fenómeno se deriva del proceso de retrogradación, que va acompañado por la cristalización y el endurecimiento, además de la liberación de agua del gel (Díaz-Montes, 2021).

En el caso de la precipitación presentada en ambos dextrano hace presencia de cadenas ramificadas en la formación de enlace glicosídico ($\alpha \rightarrow 3$) los cuales son identificados como poca solubilidad (Siddiqui et al., 2014; Miao et al., 2014).

7.4.4 Índice de absorción de agua (IAA) e índice de solubilidad en agua (ISA)

En la Tabla 13 se presenta el resultado del contenido de IAA e ISA del dextrano producido por *L. mesenteroides* P45 (control y tratamiento). En el cual se observó una mayor capacidad de absorción de agua en el caso del tratamiento. Por otro lado, en lo que respecta a la solubilidad en agua, el grupo de control mostró una solubilidad mayor.

Tabla 13 Índice de absorción de agua (AA) e índice de solubilidad en agua (ISA) del dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45

Muestra	IAA (g de gel/g de muestra)	ISA (%)
Control	3.073 ± 0.03	12.65 ± 0.22*
Tratamiento	54.944 ± 4.20*	10.257 ± 0.40

* Diferencia estadísticamente significativa mediante prueba de Tukey cuando $p < 0.05$ (n=3)

La enzima dextransacarasa tiene la capacidad de crear dextrano constituido por más del 50 % de enlaces glucosídicos α -(1→6) en la cadena principal y las ramificaciones con enlaces α -(1→2), o α -(1→4) y varía de acuerdo con el origen de la dextransacarasa. Dentro de los mecanismos del uso de electrofermentación se encuentra la modificación enzimática o bien el cambio estructural del compuesto de interés (Beretta et al., 2019; Fijałkowski et al., 2015; Moscoviz et al., 2016).

La capacidad de disolverse en agua del dextrano está ligada a su disposición de enlaces ramificados. Por lo general, los dextranos con más del 43 % de enlaces ramificados α -(1→3) presentan insolubilidad en agua. La viscosidad de la solución de dextrano varía según su concentración, temperatura y peso molecular (Kothari

et al., 2014). De acuerdo con lo reportado por Terán (2019) el dextrano proveniente de *L. mesenteroides* P45 mediante fermentación tradicional mostró 72 % de enlaces α -(1→6), 23 % de enlaces α -(1→3) y 5 % de enlaces α -(1→2) dándole la capacidad de solubilizarse en agua.

Resumiendo, los enlaces en la cadena de dextrano, junto con su peso molecular y estructura, juegan un papel crucial en su capacidad para retener agua y ser solubles en esta. Estas propiedades se pueden ajustar utilizando nuevas tecnologías como la electrofermentación.

Es debido a lo anterior que los resultados sugieren una mayor cantidad de enlaces α -(1→6) y en menor cantidad α -(1→3) o α -(1→4), así como un mayor peso molecular. Cabe destacar que la cepa más ampliamente usada es la *L. mesenteroides* NRRL B- 512F y es la única utilizada industrialmente para la producción del dextrano el cual contiene un 95 % de enlaces α -(1→6) (Rodríguez et al., 2007).

7.4.5 Poder de hinchamiento

En la Figura 11 se observan los resultados obtenidos del poder de hinchamiento de los EPS producidos mediante fermentación tradicional (control) así como aplicando el mejor tratamiento obtenido (175 μ M, 1.4 V, electrofermentación magnética, electrodos de acero inoxidable). En el cual se observó un incremento del 27 % de hinchamiento en la muestra con tratamiento respecto el control.

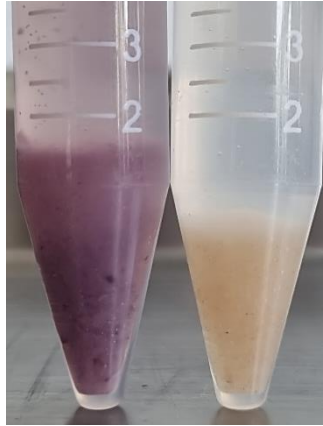


Figura 11 Poder de hinchamiento del dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45 aplicando tratamiento (izquierda) y fermentación tradicional (derecha)

El dextrano producido fue soluble y presentó alta capacidad de retener agua, esto debido a la estructura de los EPS, ya que estos pueden retener gran cantidad de agua por la presencia de enlaces de hidrógeno (Castro-Rodríguez et al., 2019).

Reiterando que dentro de los mecanismos del uso de electrofermentación se encuentra también la modificación estructural del compuesto de interés (Beretta et al., 2019; Fijałkowski et al., 2015; Moscoviz et al., 2016).

7.4.6 Dinámica de crecimiento del dextrano producido por electrofermentación magnética respecto a fermentación tradicional (control)

Los datos obtenidos en la obtención de dextrano utilizando una fermentación tradicional (control) y una fermentación electromagnética con electrodos de acero inoxidable, rojo neutro 175 μM y 1.4 V (tratamiento) durante 12 h se observa en la Figura 12. Se observa que la muestra tratada experimentó una producción de dextrano (g/L) más alta en comparación con el control. No obstante, en el caso del control, se observó un descenso en la producción alrededor de la hora 11, lo cual podría atribuirse a la presencia de compuestos secundarios generados durante la fermentación.

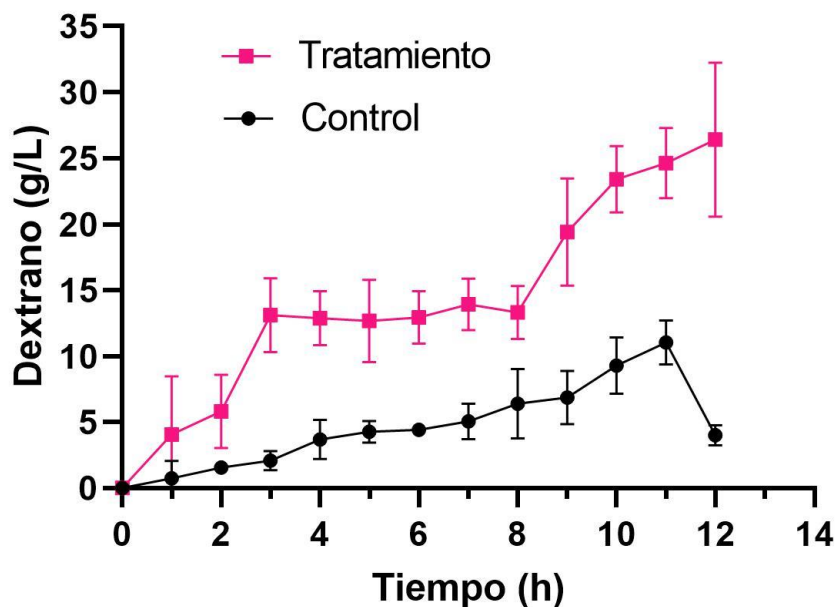


Figura 12 Dinámica de producción de dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45 control y tratamiento (n=3)

El crecimiento de *L. mesenteroides* se acompaña de la producción de ácido láctico, lo que, por ende, acidifica el medio ocasionando la detención del crecimiento celular y, posiblemente, la muerte o lisis celular debido a la entrada en el citoplasma de la forma no disociada de ácido láctico que disminuye el pH intracelular. Esto provoca desnaturalización tanto de las enzimas esenciales como la dextransacarasa e interfiere con el transporte de nutrientes (Ju et al., 2016), traduciéndose al final una disminución de la producción de dextrano.

7.4.7 Actividad enzimática

De acuerdo con los datos que se obtuvieron respecto a la curva de crecimiento de *Leuconostoc mesenteroides* P45, se optó por evaluar su actividad enzimática a las 4 h y un pH de 5.5 a 30 °C (Figura 13).

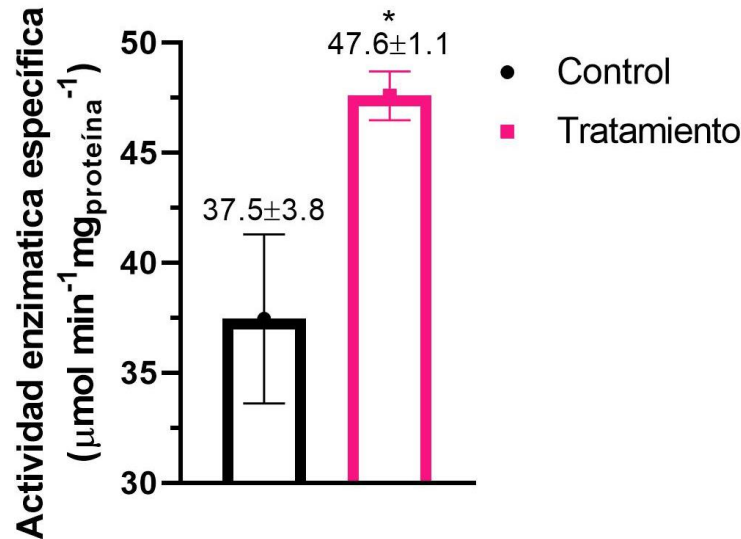


Figura 13 Actividad enzimática de la dextransacarasa a las 4 h, pH 5.5 a 30 °C control (fermentación tradicional) y tratamiento (electrofermentación magnética).

* Diferencia estadísticamente significativa mediante prueba de Tukey cuando $p < 0.05$ (n=3)

El aumento en la producción de dextrano observado en el tratamiento en comparación con el control puede asociarse con una mayor actividad de la dextransacarasa. El campo eléctrico y magnético generado durante la electrofermentación favorece tanto la transferencia de electrones como de diversas moléculas en el medio de fermentación. Además, provoca la polarización y carga superficial de los compuestos, lo que resulta en una mayor disponibilidad e interacción del sustrato con la enzima. Esto a su vez promueve la actividad de la dextransacarasa (Beretta et al., 2019; Fijałkowski et al., 2015; Moscoviz et al., 2016).

7.4.8 Análisis de espectroscopia FT-IR

Se realizó análisis FT-IR para la caracterización de los grupos funcionales presentes dentro de la estructura del dextrano P45 (Figura 14).

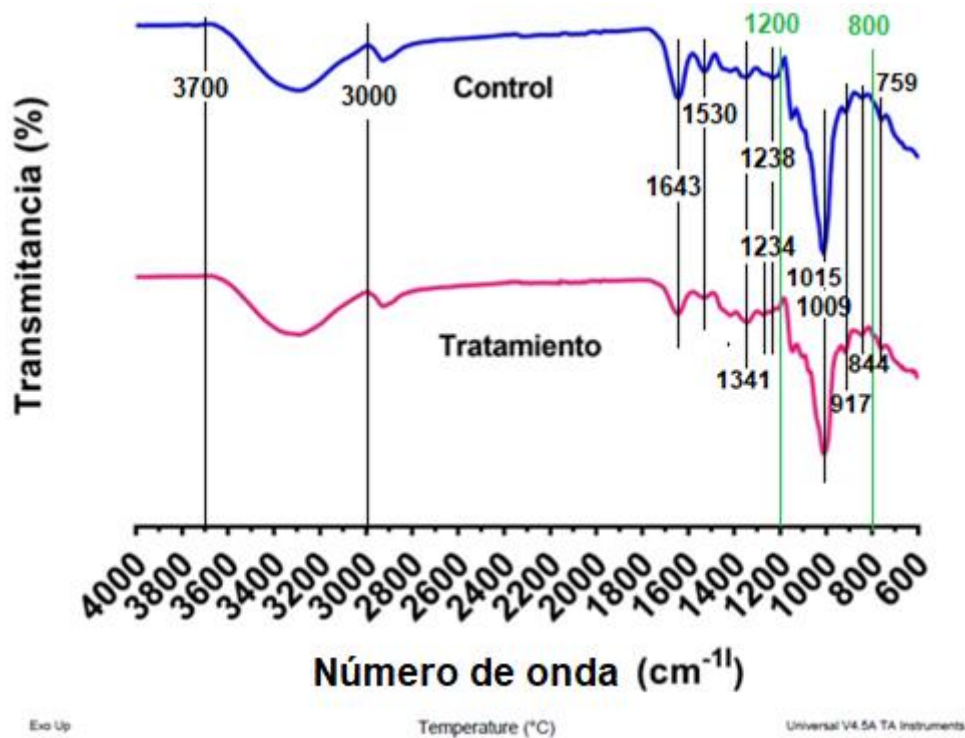


Figura 14 FT-IR del dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45 control (fermentación tradicional) y tratamiento (electrofermentación magnética)

Como puede verse en la Figura 14 en ambas muestras (control y tratamiento) los datos espectrales obtenidos del dextrano mostraron los principales picos característicos. De acuerdo con Ispirli (2021), se observó un pico amplio en ambos dextranos entre 3,000 y 3,700 cm^{-1} característico de los grupos hidroxilo en dextranos debido a los enlaces de puente de hidrógeno (O-H). Seguidamente se expresaron los picos en 1,643 cm^{-1} , 1,234 cm^{-1} y 1,238 cm^{-1} relacionados con la vibración de estiramiento C-H en el anillo de azúcar (Kavitake et al., 2016; Wang et al., 2010). El pico expresado en 1530 hace referencia a la presencia de amidas tipo II. Se observó un pico relativamente pequeño en el caso del tratamiento en 1341 cm^{-1} asignado a la flexión simétrica CH_3 (Ispirli & Dertli, 2021).

La región del número de onda que abarca 1200 a 800 cm^{-1} es considerada la región de la “huella dactilar” que caracteriza los exopolisacáridos (Abid et al., 2018). Se observó un pico fuerte a 1009 cm^{-1} correspondiente al área de la región entre 950-1100 cm^{-1} asignado al estiramiento de los grupos C-O-C y C-O de los polisacáridos

(Ispirli & Dertli, 2021). La presencia de los picos en dextrano tratado 918, 845, 759 y dextrano control 917, 844, 757 indican la presencia de cadenas ramificadas en la formación de enlace glicosídico ($\alpha \rightarrow 3$) (Siddiqui et al., 2014; Miao et al., 2014). El pico expresado en 1015 cm^{-1} podría atribuirse a la gran flexibilidad de la cadena presente en el dextrano alrededor de los enlaces glicosídicos ($1 \rightarrow 6$) (Purama et al., 2009).

Estos resultados de FT-IR demostraron la existencia de grupos distintos dentro de la estructura del dextrano producido por *L. mesenteroides* P45 confirmando la existencia de las unidades de α -D-glucosa enlazadas ($1 \rightarrow 6$) y ($1 \rightarrow 3$) en la estructura del dextrano P45. La ausencia de una banda en $870\text{--}890\text{ cm}^{-1}$ indicó que podría no haber un enlace glucosídico β presente en el polímero, reafirmando la configuración α (Das & Goyal, 2014). Resultados comparables de acuerdo a lo reportado por Terán (2019) reportando 72 % de enlaces α ($1 \rightarrow 6$), 23 % de α ($1 \rightarrow 3$) y 5 % de α ($1 \rightarrow 2$).

7.4.9 Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Las características relevantes de los EPS producidos en fermentación tradicional y electrofermentación es sin duda sus posibles cambios microestructurales, funciones tecnológicas, así como sus características microestructurales superficiales.

En la Figura 15 se muestran el SEM realizado a ambos dextranos (fermentación tradicional y electrofermentación). En el caso del dextrano obtenido por fermentación tradicional (izquierda) se observaron formaciones granulares/globulares, este resultado es comparable con lo obtenido por Lule et al., (2016) y el dextrano producido por la cepa *Leuconostoc mesenteroides* BA08 en el cual se observaron similitudes en este tipo de estructura. En el caso del dextrano producido por electromagnetismo (izquierda) se aprecia una estructura lisa, así como la formación de fibras, y una ausencia de formaciones globulares notable. Lo anterior es comprable con lo reportado por Aburas et al., (2020) donde la estructura del dextrano producido por *Weissella cibaria* MED 17 aislada de masa fermentada reportado como “lamina compacta” y caso totalmente contrario a lo descrito por Rishikesh Shukla et al., (2011) y el dextrano producido por *Leuconostoc*

mesenteroides NRRL B-1149 reportado como estructura poco porosa a lo cual le atribuye la falta de solubilidad en agua.

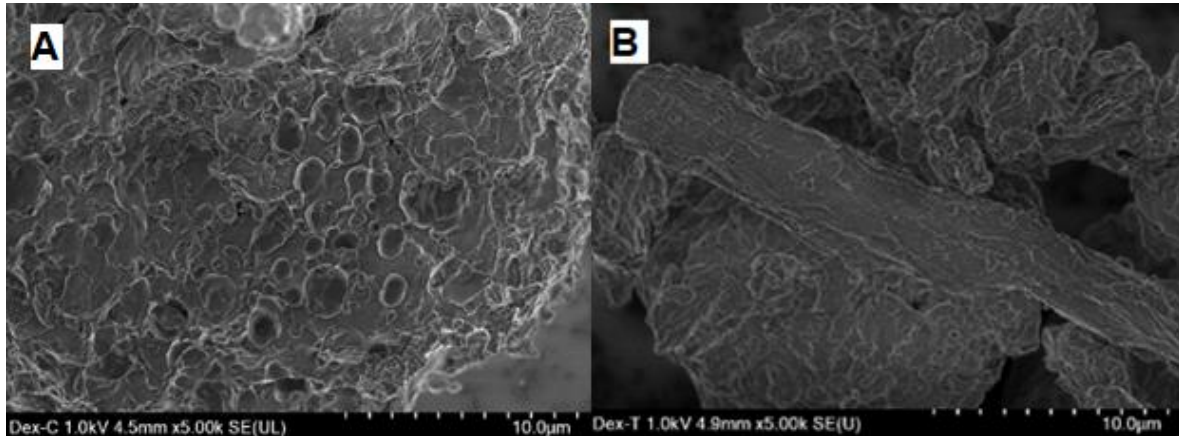


Figura 15 Microscopia electrónica de barrido del dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45 por fermentación tradicional (izquierda) aumento x5.00k y electrofermentación magnética (derecha) aumento x5.00k

7.4.10 Análisis calorimetría diferencial de barrido (DSC)

En la Figura 16 se muestran los resultados obtenidos del análisis DSC del dextrano producido por *L. mesenteroides* P45 por fermentación tradicional (control) (A) y electrofermentación magnética (tratamiento) (B). Donde se puede observar en el caso del control, una degradación aguda alrededor de los 155 °C mientras que en el caso del dextrano tratado comienza alrededor de los 147 °C, resultados comparables según lo reportados por Xu et al., (2018) así como lo reportado por Chen et al., (2015) con 131.46 °C respectivamente.

Por otro lado y según lo reportado por Taylan et al., (2019) utilizando una cepa de *L. mesenteroides* mostró una degradación alrededor de 200°C.

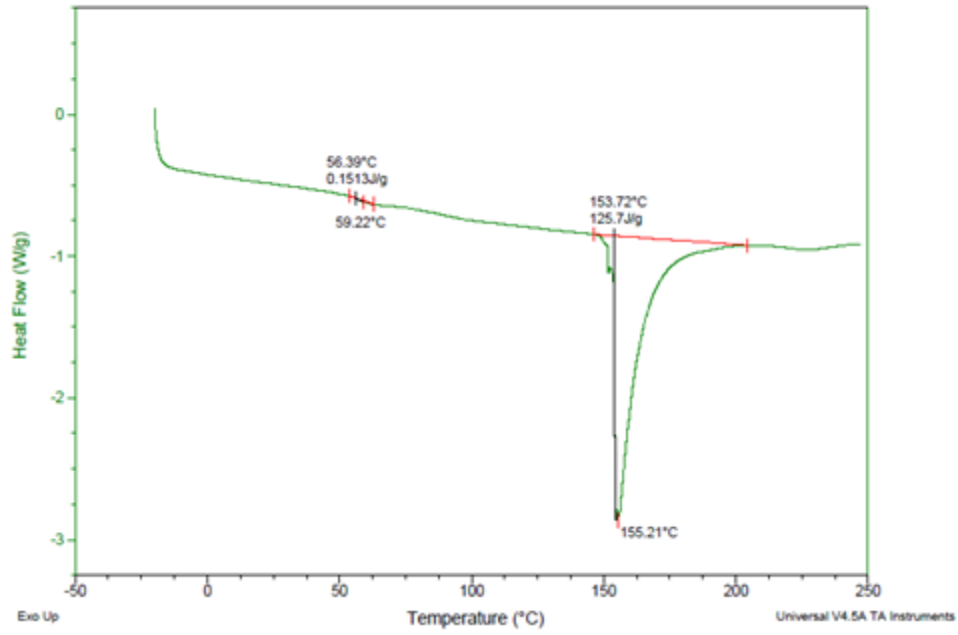
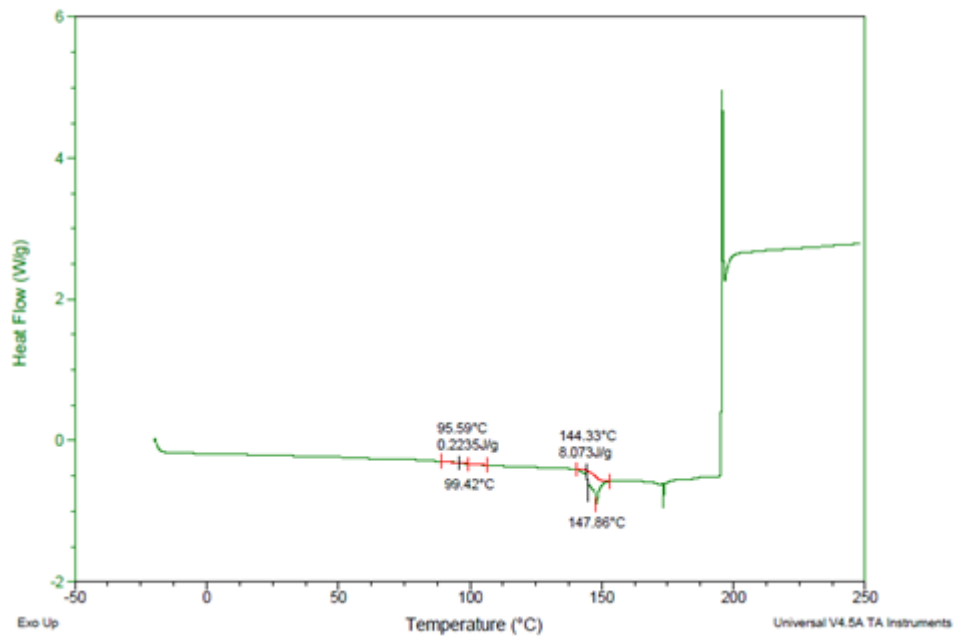
A**B**

Figura 16 Análisis DSC del dextrano producido por *Leuconostoc mesenteroides* P45 (A) control (B) tratamiento

7.4.11 Rayos X

Se realizó la difracción de rayos X (Figura 17) para determinar su estructura amorfa, semicristalina o cristalina. Los patrones del análisis se muestran en la Figura 11. En general los picos presentados entre 10° y 30° son característicos de dextrano (Charoenwongpaiboon et al., 2021; Veverka et al., 2014). A su vez estos marcaron picos de 18.58° en el caso del tratamiento y 18.76° en el control, confirmando la estructura amorfa de los dextransos. También aparece un pico romo en el perfil de ambos dextransos en el intervalo de 15° - 25° lo que indica un cierto nivel de cristalinidad (Yuan et al., 2009). El porcentaje de cristalinidad del dextrano cuantificado por la relación del área bajo la curva del pico mayoritario con el área total del difractograma fue 4 % mayor en el tratamiento (69 %) comparado con el control (65 %).

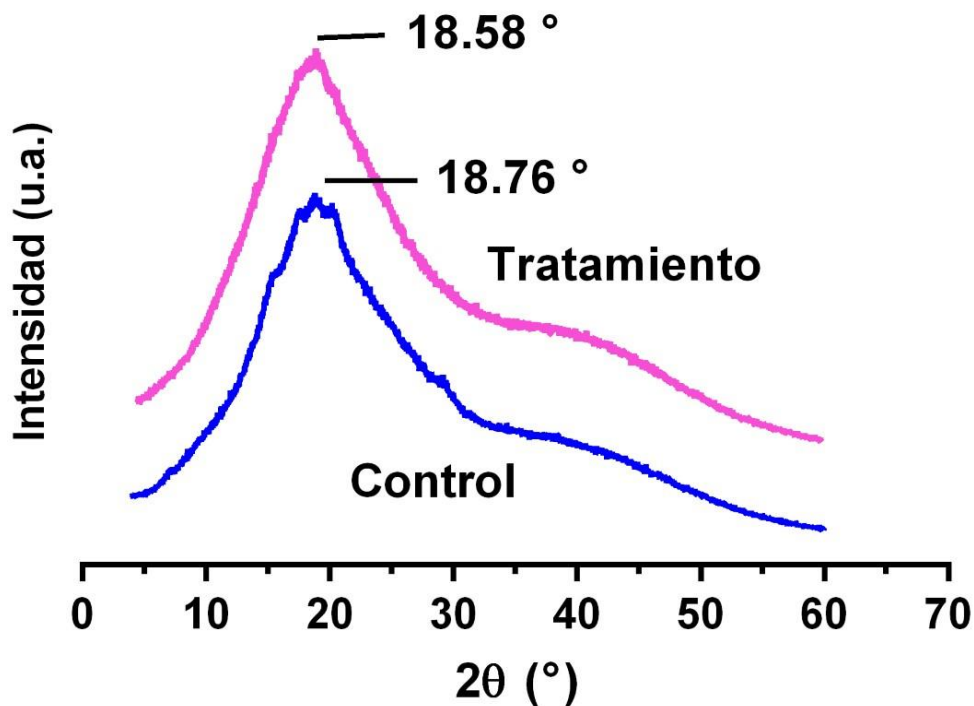


Figura 17 Perfiles de difracción de los dextransos producidos por *Leuconostoc mesenteroides* P45. Control (fermentación tradicional) y tratamiento (electrofermentación magnética)

8. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

En condiciones limitadas de nitrógeno *L. mesenteroides* P45 promueve la producción de dextrano.

La aplicación de voltaje, magnetismo y un mediador, promovió tanto la producción y el rendimiento del dextrano de *L. mesenteroides* P45 en un sistema de electrofermentación. Esta bacteria demostró ser una bacteria ácido láctica con capacidad electroactiva.

El dextrano producido bajo el sistema de electrofermentación magnética con mediador, produjo cambios estructurales en el dextrano atribuyéndole características emulsificantes, espesantes y estabilizantes diferentes a la fermentación tradicional.

La electrofermentación muestra un gran potencial para mejorar la eficiencia y selectividad de los procesos fermentativos, abriendo nuevas posibilidades en la producción de productos de interés. Sin embargo, para aprovechar las bondades de la electrofermentación a nivel industrial deben solventarse algunas de las limitaciones tales como la complejidad del sistema, selección de microorganismos, limitaciones de escala, energía requerida, optimización de procesos y escasez de conocimientos.

9. REFERENCIAS

Abid, Y., Casillo, A., Gharsallah, H., Joulak, I., Lanzetta, R., Corsaro, M. M., Attia, H., & Azabou, S. (2018). Production and structural characterization of exopolysaccharides from newly isolated probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Biological Macromolecules*, *108*, 719-728.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.155>

Aburas, H., İspirli, H., Taylan, O., Yilmaz, M. T., & Dertli, E. (2020). Structural and physicochemical characterisation and antioxidant activity of an α -D-glucan produced by sourdough isolate *Weissella cibaria* MED17. *International Journal of Biological Macromolecules*, *161*, 648-655.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.030>

Amjres, H., Béjar, V., Quesada, E., Carranza, D., Abrini, J., Siquin, C., Ratiskol, J., Collic-Jouault, S., & Llamas, I. (2015). Characterization of haloglycan, an exopolysaccharide produced by *Halomonas stenophila* HK30. *International Journal of Biological Macromolecules*, *72*, 117-124.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.07.052>

Badui, S., & Morales, A. (2006). *Química de los alimentos: Vol. No. 04*. Pearson educación.

Barcelos, M. C. S., Vespermann, K. A. C., Pelissari, F. M., & Molina, G. (2020). Current status of biotechnological production and applications of microbial exopolysaccharides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(9), 1475-1495.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1575791>

Beretta, G., Mastorgio, A. F., Pedrali, L., Saponaro, S., & Sezenna, E. (2019). The effects of electric, magnetic and electromagnetic fields on microorganisms in the perspective of bioremediation. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *18*(1), 29-75.

<https://doi.org/10.1007/s11157-018-09491-9>

Castro-Rodríguez, D., Humberto Hernandez Sanchez, & Jorge Yañez Fernandez. (2019). *Probiotic properties of Leuconostoc mesenteroides isolated from*

aguamiel of agave salmiana. Probiotics and antimicrobial proteins, 7, 107-117.

Cerning, J. (1990). Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters, 87*(1-2), 113-130.

<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1990.tb04883.x>

Charoenwongpaiboon, T., Wangpaiboon, K., Pichyangkura, R., Nepogodiev, S. A., Wonganan, P., Mahalapbutr, P., & Field, R. A. (2021). Characterization of a nanoparticulate exopolysaccharide from *Leuconostoc holzapfelii* KM01 and its potential application in drug encapsulation. *International Journal of Biological Macromolecules, 187*, 690-698.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.174>

Chen, Z., Shi, J., Yang, X., Nan, B., Liu, Y., & Wang, Z. (2015). Chemical and physical characteristics and antioxidant activities of the exopolysaccharide produced by Tibetan kefir grains during milk fermentation. *International Dairy Journal, 43*, 15-21.

<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.10.004>

Choi, O., Kim, T., Woo, H. M., & Um, Y. (2014). Electricity-driven metabolic shift through direct electron uptake by electroactive heterotroph *Clostridium pasteurianum*. *Scientific Reports, 4*(1), 6961.

<https://doi.org/10.1038/srep06961>

Choi, O., Um, Y., & Sang, B.-I. (2012). Butyrate production enhancement by *Clostridium tyrobutyricum* using electron mediators and a cathodic electron donor. *Biotechnology and Bioengineering, 109*(10), 2494-2502.

<https://doi.org/10.1002/bit.24520>

Das, D., & Goyal, A. (2014). Characterization and biocompatibility of glucan: A safe food additive from probiotic *Lactobacillus plantarum* DM5: Characterization and biocompatibility of glucan. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 94*(4), 683-690.

<https://doi.org/10.1002/jsfa.6305>

- Delikanli, B., & Ozcan, T. (2017). Improving the textural properties of yogurt fortified with milk proteins. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5), e13101.
<https://doi.org/10.1111/jfpp.13101>
- Dharmik, P., & Narkhede, S. (2020). Effect of nitrogen sources and sucrose concentration on dextran production by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL-B-512F. 8(9).
- Díaz-Montes, E. (2021). Dextran: Sources, structures, and properties. *Polysaccharides*, 2(3), 554-565.
<https://doi.org/10.3390/polysaccharides2030033>
- Dols, M., Remaud-Simeon, M., & Monsan, P. F. (1997). *Leuconostoc mesenteroides*.
- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., & Stackebrandt, E. (Eds.). (2006). *The prokaryotes: Volume 4: bacteria: firmicutes, cyanobacteria*. Springer US.
<https://doi.org/10.1007/0-387-30744-3>
- Ekielski, A., Żelaziński, T., Siwek, A., Sharma, V., & Kumar Mishra, P. (2020). Formulation and characterization of corn grits- propylene glycol extrudates. *Materials Today: Proceedings*, 21, 1772-1780.
<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.01.230>
- Fijałkowski, K., Nawrotek, P., Struk, M., Kordas, M., & Rakoczy, R. (2015). Effects of rotating magnetic field exposure on the functional parameters of different species of bacteria. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 34(1), 48-55.
<https://doi.org/10.3109/15368378.2013.869754>
- Garibay, Canales, & Ramirez. (1993). *Biotecnología alimentaria*. Editorial Limusa.
- Giles-Gómez, M., Sandoval García, J. G., Matus, V., Campos Quintana, I., Bolívar, F., & Escalante, A. (2016). In vitro and in vivo probiotic assessment of *Leuconostoc mesenteroides* P45 isolated from pulque, a Mexican traditional alcoholic beverage. *SpringerPlus*, 5(1), 708.
<https://doi.org/10.1186/s40064-016-2370-7>

- Hemme, D., & Foucaud-Scheunemann, C. (2004). *Leuconostoc*, characteristics, use in dairy technology and prospects in functional foods. *International Dairy Journal*, 14(6), 467-494.
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2003.10.005>
- Ispirli, H., & Dertli, E. (2021). Detection of fructophilic lactic acid bacteria (FLAB) in bee bread and bee pollen samples and determination of their functional roles. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(5).
<https://doi.org/10.1111/jfpp.15414>
- Jaspreet Singh, Owen J. McCarthy, Harjinder Singh, Paul J. Moughan, & Lovedeep Kaur. (2007). Morphological, thermal and rheological characterization of starch isolated from New Zealand Kamo Kamo (*Cucurbita pepo*) fruit – A novel source. *Carbohydrate Polymers*.
- Ju, S. Y., Kim, J. H., & Lee, P. C. (2016). Long-term adaptive evolution of *Leuconostoc mesenteroides* for enhancement of lactic acid tolerance and production. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1), 240.
<https://doi.org/10.1186/s13068-016-0662-3>
- Karababa, E., & Coşkuner, Y. (2013). Physical properties of carob bean (*Ceratonia siliqua* L.): An industrial gum yielding crop. *Industrial Crops and Products*, 42, 440-446. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.05.006>
- Kavitake, D., Devi, P. B., Singh, S. P., & Shetty, P. H. (2016). Characterization of a novel galactan produced by *Weissella confusa* KR780676 from an acidic fermented food. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 681-689. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.099>
- Kothari, D., Das, D., Patel, S., & Goyal, A. (2014). Dextran and food application. En K. G. Ramawat & J.-M. Mérillon (Eds.), *Polysaccharides* (pp. 1-16). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-03751-6_66-1
- Lacaze, G., Wick, M., & Cappelle, S. (2007). Emerging fermentation technologies: Development of novel sourdoughs. *Food Microbiology*, 24(2), 155-160.
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2006.07.015>
- Lule, V. K., Singh, R., Pophaly, S. D., Poonam, & Tomar, S. K. (2016). Production and structural characterisation of dextran from an indigenous strain of

Leuconostoc mesenteroides BA08 in Whey. *International Journal of Dairy Technology*, 69(4), 520-531.

<https://doi.org/10.1111/1471-0307.12271>

Mathew, A. S., Wang, J., Luo, J., & Yau, S.-T. (2015). Enhanced ethanol production via electrostatically accelerated fermentation of glucose using *Saccharomyces cerevisiae*. *Scientific Reports*, 5(1), 15713.

<https://doi.org/10.1038/srep15713>

Miao, M., Li, R., Jiang, B., Cui, S. W., Zhang, T., & Jin, Z. (2014). Structure and physicochemical properties of octenyl succinic esters of sugary maize soluble starch and waxy maize starch. *Food Chemistry*, 151, 154-160.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.043>

Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428.

<https://doi.org/10.1021/ac60147a030>

Moscoviz, R., Toledo-Alarcón, J., Trably, E., & Bernet, N. (2016). Electro-fermentation: How to drive fermentation using electrochemical systems. *Trends in Biotechnology*, 34(11), 856-865.

<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.04.009>

Naessens, M., Cerdobbel, A., Soetaert, W., & Vandamme, E. J. (2005). *Leuconostoc* dextransucrase and dextran: Production, properties and applications. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 80(8), 845-860.

<https://doi.org/10.1002/jctb.1322>

Pasquel, A. (2001). Gomas: Una aproximación a la industria de alimentos. Pasquel, Revista Amazónica de Investigación Alimentaria, 1(1), 1-8.

Phillips, G. O., & Williams, P. A. (2009). *Handbook of hydrocolloids* (2nd ed). CRC press Woodhead publ.

Pospíšilová, D., Schreiberová, O., Jirků, V., & Lederer, T. (2015). Effects of magnetic field on phenol biodegradation and cell physiochemical properties of *Rhodococcus erythropolis*. *Bioremediation Journal*, 19(3), 201-206.

<https://doi.org/10.1080/10889868.2015.1029114>

- Prajapati, V. D., Jani, G. K., & Khanda, S. M. (2013). Pullulan: An exopolysaccharide and its various applications. *Carbohydrate Polymers*, 95(1), 540-549.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.082>
- Purama, R. K., Goswami, P., Khan, A. T., & Goyal, A. (2009). Structural analysis and properties of dextran produced by *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-640. *Carbohydrate Polymers*, 76(1), 30-35.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.09.018>
- Qu, M., Chen, J., Huang, Q., Chen, J., Xu, Y., Luo, J., Wang, K., Gao, W., & Zheng, Y. (2018). Bioremediation of hexavalent chromium contaminated soil by a bioleaching system with weak magnetic fields. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 128, 41-47.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.08.022>
- Raghavendra, S. N., Ramachandra Swamy, S. R., Rastogi, N. K., Raghavarao, K. S. M. S., Kumar, S., & Tharanathan, R. N. (2006). Grinding characteristics and hydration properties of coconut residue: A source of dietary fiber. *Journal of Food Engineering*, 72(3), 281-286.
<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.12.008>
- Rakoczy, R., Konopacki, M., & Fijałkowski, K. (2016). The influence of a ferrofluid in the presence of an external rotating magnetic field on the growth rate and cell metabolic activity of a wine yeast strain. *Biochemical Engineering Journal*, 109, 43-50.
<https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.01.002>
- Rawson, F. J., Downard, A. J., & Baronian, K. H. (2014). Electrochemical detection of intracellular and cell membrane redox systems in *Saccharomyces cerevisiae*. *Scientific Reports*, 4(1), 5216.
<https://doi.org/10.1038/srep05216>
- Reiter, T., Montpetit, R., Byer, S., Frias, I., Leon, E., Viano, R., Mcloughlin, M., Halligan, T., Hernandez, D., Runnebaum, R., & Montpetit, B. (2021). *Saccharomyces cerevisiae* gene expression during fermentation of pinot noir wines at an industrially relevant scale. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(11), e00036-21.

<https://doi.org/10.1128/AEM.00036-21>

Rishikesh Shukla, Shukla, S., Bivolarski, V., Iliev, I., Ivanova, I., & Goyal, A. (2011). *Structural characterization of insoluble dextran produced by Leuconostoc mesenteroides NRRL B-1149 in the presence of maltose.*

<https://doi.org/10.13140/2.1.2567.7442>

Robyt, J. F., Yoon, S.-H., & Mukerjea, R. (2008). Dextranase and the mechanism for dextran biosynthesis. *Carbohydrate Research*, 343(18), 3039-3048. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2008.09.012>

Rodríguez Llegado, A. A., & Cjuno H, J. A. (2020). Determinación de la concentración de quitosano en polvo por viscosimetría capilar. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 86(1), 24-33.

<https://doi.org/10.37761/rsqp.v86i1.269>

Schievano, A., Pepé Sciarria, T., Vanbroekhoven, K., De Wever, H., Puig, S., Andersen, S. J., Rabaey, K., & Pant, D. (2016). Electro-fermentation – merging electrochemistry with fermentation in industrial applications. *Trends in Biotechnology*, 34(11), 866-878.

<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.04.007>

Schmid, J., Sieber, V., & Rehm, B. (2015). Bacterial exopolysaccharides: Biosynthesis pathways and engineering strategies. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00496>

Siddiqui, N. N., Aman, A., Silipo, A., Qader, S. A. U., & Molinaro, A. (2014). Structural analysis and characterization of dextran produced by wild and mutant strains of *Leuconostoc mesenteroides*. *Carbohydrate Polymers*, 99, 331-338.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.004>

Smith, M. R., Zahnley, J. C., Wong, R. Y., Lundin, R. E., & Ahlgren, J. A. (1998). A mutant strain of *Leuconostoc mesenteroides* B-1355 producing a glucosyltransferase synthesizing glucosidic linkages. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 21(1-2), 37-45.

<https://doi.org/10.1038/sj.jim.2900558>

Sturm-Richter, K., Golitsch, F., Sturm, G., Kipf, E., Dittrich, A., Beblawy, S., Kerzenmacher, S., & Gescher, J. (2015). Unbalanced fermentation of glycerol

in *Escherichia coli* via heterologous production of an electron transport chain and electrode interaction in microbial electrochemical cells. *Bioresource Technology*, 186, 89-96.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.02.116>

Taylan, O., Yilmaz, M. T., & Dertli, E. (2019). Partial characterization of a levan type exopolysaccharide (EPS) produced by *Leuconostoc mesenteroides* showing immunostimulatory and antioxidant activities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 436-444.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.078>

Terán, E. (2019). Caracterización estructural y de la síntesis del exopolisacárido producido por la cepa P45 de *Leuconostoc mesenteroides*.

Vázquez. (2012). Aplicaciones de los exopolisacáridos producidos por bacterias ácido lácticas en la calidad y funcionalidad de los alimentos.

Venkata Mohan, S., Nikhil, G. N., Chiranjeevi, P., Nagendranatha Reddy, C., Rohit, M. V., Kumar, A. N., & Sarkar, O. (2016). Waste biorefinery models towards sustainable circular bioeconomy: Critical review and future perspectives. *Bioresource Technology*, 215, 2-12.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.130>

Veverka, M., Dubaj, T., Gallovič, J., Jorík, V., Veverková, E., Mičušík, M., & Šimon, P. (2014). Beta-glucan complexes with selected nutraceuticals: Synthesis, characterization, and stability. *Journal of Functional Foods*, 8, 309-318.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.03.032>

Wang, R., Dijkstra, P. J., & Karperien, M. (2016). Dextran. En *Biomaterials from Nature for Advanced Devices and Therapies* (pp. 307-319). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781119126218.ch18>

Wang, Z., Xie, X., Xiao, S., & Liu, J. (2010). Adsorption behavior of glucose on pyrite surface investigated by TG, FTIR and XRD analyses. *Hydrometallurgy*, 102(1-4), 87-90. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2010.01.004>

Watanabe, D., Kajihara, T., Sugimoto, Y., Takagi, K., Mizuno, M., Zhou, Y., Chen, J., Takeda, K., Tatebe, H., Shiozaki, K., Nakazawa, N., Izawa, S., Akao, T., Shimoi, H., Maeda, T., & Takagi, H. (2019). Nutrient signaling via the TORC1-

Greatwall-PP2A^{B55δ} Pathway Is responsible for the high initial rates of alcoholic fermentation in sake yeast strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(1), e02083-18.

<https://doi.org/10.1128/AEM.02083-18>

Xu, W., Liu, Q., Bai, Y., Yu, S., Zhang, T., Jiang, B., & Mu, W. (2018).

Physicochemical properties of a high molecular weight levan from *Brenneria* sp. EniD312. *International Journal of Biological Macromolecules*, 109, 810-818.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.056>

Yáñez-Fernández, J., Herrera Ovando, M. G., Patlán Ramírez, L., Ramírez-Sotelo, G., Guarín, C. A., & Castro-Rodríguez, D. C. (2021). Factorial design to optimize dextran production by the native strain *Leuconostoc mesenteroides* SF3. *ACS Omega*, 6(46), 31203-31210.

<https://doi.org/10.1021/acsomega.1c04856>

Yuan, W., Geng, Y., Wu, F., Liu, Y., Guo, M., Zhao, H., & Jin, T. (2009). Preparation of polysaccharide glassy microparticles with stabilization of proteins. *International Journal of Pharmaceutics*, 366(1-2), 154-159.

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.09.007>

Zannini, E., Pontonio, E., Waters, D. M., & Arendt, E. K. (2012). Applications of microbial fermentations for production of gluten-free products and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(2), 473-485.

<https://doi.org/10.1007/s00253-011-3707-3>

Zhang, S., Wei, W., Zhang, J., Mao, Y., & Liu, S. (2002). Effect of static magnetic field on growth of *Escherichia coli* and relative response model of series piezoelectric quartz crystal. *The Analyst*, 127(3), 373-377.

<https://doi.org/10.1039/b109617f>