

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO TRICLOROACÉTICO EN LA EXTRACCIÓN DE KEFIRANO UN EXOPOLISACÁRIDO PRODUCIDO POR LA FERMENTACIÓN DE LECHE CON GRÁNULOS DE KÉFIR**

Carlos Jiménez Pérez<sup>1</sup>, Lorena Gómez-Ruiz<sup>1</sup>, Francisco Guzmán-Rodríguez<sup>1</sup>, Gabriela Rodríguez-Serrano<sup>1</sup>, Mariano García-Garibay<sup>1,2</sup>, Alma Cruz-Guerrero<sup>1</sup>, Sergio Alatorre-Santamaría<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, CDMX, C.P. 09340.

<sup>2</sup>Departamento de Ciencias de la Alimentación, Universidad Autónoma Metropolitana-Lerma, Edo. de México, 52006. ibi.cjimenez@xanum.uam.mx.

*Palabras clave: exopolisacáridos, kéfir, ácido tricloroacético*

**Introducción.** Los exopolisacáridos (EPS) son polisacáridos de cadena larga formados por unidades ramificadas y repetitivas de azúcares (1). El kéfirano es un EPS producido por la microbiota de los gránulos de kéfir (2). Tienen un extenso uso en la industria alimentaria (1). La producción de EPS consiste en fermentaciones con diferentes medios entre los que se incluye la leche. El proceso de extracción consiste en una precipitación de proteínas con ácido tricloroacético (TCA), seguido de una solvatación del EPS con etanol y una diálisis para remover pequeñas moléculas y iones (1). Uno de los pasos críticos es la concentración de TCA empleada, ya que hay una gran variación entre los autores, donde se reporta el uso que va desde el 4 hasta el 80% (p/v), con lo que se obtienen diferentes concentraciones de EPS (2-5).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de dos concentraciones de ácido tricloroacético (TCA) al 10 y 80% (p/v) en la disminución de las proteínas asociadas al EPS producido a partir de la fermentación de leche con gránulos de kéfir.

**Metodología.** La producción del EPS se llevó a cabo mediante la fermentación de leche entera (Alpura®) con gránulos de kéfir en una relación del 10% (p/v) por 24 h a 25 °C. La extracción de los EPS consistió en filtrar la leche fermentada para retirar los gránulos, seguido de una precipitación de proteínas con TCA, posteriormente de una solvatación con etanol absoluto. Finalmente, se realizó una purificación por diálisis con membrana de 10 kDa y una liofilización.

**Resultados.** De acuerdo con las condiciones empleadas para extraer y purificar el EPS producido por los gránulos de kéfir, se puede observar en la Figura 1 que se obtiene una mayor cantidad de sólidos (166.6 ± 20.14 mg) en la extracción con TCA al 10%, en comparación con el TCA al 80% donde se obtuvieron 131.3 ± 8.14 mg sólidos.

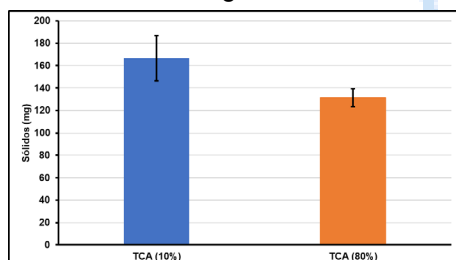


Figura 1. EPS liofilizado obtenido por la extracción empleando las dos concentraciones de TCA.

Estos resultados se compararon con lo reportado por Rimada & Abraham (3) donde de igual forma se fermento leche con el 10% (p/v) de gránulos de kéfir y la extracción la realizaron empleando TCA al 80% obteniendo 118 ± 9 mg de EPS (sólidos), siendo menor a la obtenida en este trabajo, cabe resaltar que su fermentación fue por 96 h a 20 °C.

Por otro lado, al realizar un análisis de la relación entre los carbohidratos y las proteínas (C/P) en los sólidos obtenidos, se determinó que al utilizar TCA al 10% se tenía mayor cantidad de proteínas (C/P=0.28) en comparación al emplear TCA al 80% (C/P=1.35). Con lo que se puede inferir que al disminuir la concentración de TCA, hay un incremento de sólidos (27%), de los cuales pueden ser las proteínas asociadas al EPS.

Con base en los resultados obtenidos se aprecia que, a pesar de que el tratamiento con TCA al 80% disminuye la cantidad de proteínas, es probable que también haya una hidrólisis del EPS, ya que en la diálisis es posible que pequeñas fracciones del EPS sean removidas. En el caso del TCA al 10% es factible que no haya una precipitación eficaz de las proteínas, pero manteniendo el EPS intacto. Algunos autores, sugieren el uso de proteasas previo al proceso de precipitación de las proteínas para asegurar su remoción, lo cual será estudiado posteriormente.

**Conclusiones.** De acuerdo con los resultados obtenidos, se comprobó que utilizar concentraciones altas de TCA puede afectar la estructura de los EPS, a pesar de ser efectivo en la precipitación de las proteínas.

**Bibliografía.**

1. Tiwari y col. (2021). Int. J. Biol. Macromol. 183:1585-1595
2. Freitas y col. (2011). Trends Biotechnol. 29(8): 388-398.
3. Rimada & Abraham (2003). Le Lait. 83(1):79-87.
4. Tang y col. (2020). Carbohydr. Polym. 115593
5. Ayyash y col. (2020). Food Chem. 127418