

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería



**Extracción de pigmentos microbianos como alternativa a
pigmentos comerciales**

Trabajo de graduación presentado por Valerie Dayana Flores Escobar para
optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería en Biotecnología
Industrial

Guatemala,
2021

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería



**Extracción de pigmentos microbianos como alternativa a
pigmentos comerciales**


Trabajo de graduación presentado por Valerie Dayana Flores Escobar para
optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería en Biotecnología
Industrial

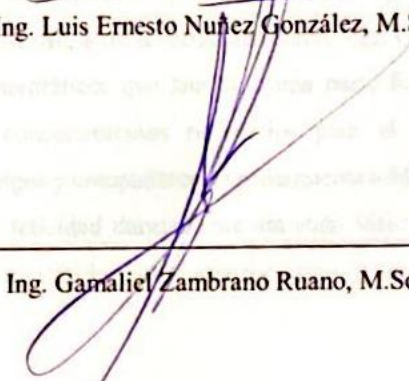
Guatemala,
2021


Vo.Bo.:

(f) 
Ing. Luis Ernesto Nuñez González, M.Sc.

Tribunal Examinador:

(f) 
Ing. Luis Ernesto Nuñez González, M.Sc.

(f) 
Ing. Gamaliel Zambrano Ruano, M.Sc.

(f) 
Ing. Eddy Melendez

Fecha de aprobación de examen de graduación:

Guatemala, 16 de diciembre de 2021.

PREFACIO

A lo largo de mis años estudiando Ingeniería en Biotecnología Industrial, surgió en mí un interés por el biodiseño, una disciplina que combina dos áreas muy allegadas a mí: la ciencia y el diseño. Este, además de interesante, tiene un alto potencial para el desarrollo de soluciones a problemas que pueden cambiar el mundo, especialmente en estos momentos en donde más se necesitan. Al ser de los primeros trabajos de graduación en Guatemala sobre pigmentos microbianos, espero haber sentado un precedente digno para futuras investigaciones relacionadas con del tema.

Agradezco a mi familia, principalmente a mis padres, Roberto y Brenda, y a Allan, Sandy y Marcelo por su colaboración y apoyo durante este trabajo y por enseñarme que el trabajo duro, esfuerzo y dedicación rinden frutos. Además, quiero expresar mi agradecimiento a mi asesor Ing. Luis Ernesto Núñez González, M. Sc, a mi director de carrera Ing. Gamaliel Giovanni Zambrano Ruano, M. Sc y a todos los catedráticos que han sido una parte fundamental en mi formación académica para adquirir los conocimientos necesarios para el desarrollo de este trabajo. Finalmente, agradezco a mis amigos y compañeros, especialmente a Monika, Sebastián y Alejandra, por darme aliento y felicidad durante este atareado viaje y por creer en mí desde el principio. Sin ninguno de los mencionados anteriormente, nada de esto hubiera sido posible.

ÍNDICE

| | |
|---------------------------------------------------------------|------|
| PREFACIO | viii |
| LISTA DE CUADROS | ix |
| LISTA DE FIGURAS | XXII |
| RESUMEN | XXIX |
| ABSTRACT | XXX |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. ANTECEDENTES | 3 |
| III. JUSTIFICACIÓN | 5 |
| IV. OBJETIVOS | 7 |
| A. General | 7 |
| B. Específicos | 7 |
| V. MARCO TEÓRICO | 8 |
| A. Pigmentos comerciales | 8 |
| B. Pigmentos naturales: pigmentos microbianos | 9 |
| C. Pigmentos bacterianos | 13 |
| D. Producción y escalamiento de pigmentos bacterianos | 16 |
| E. Crecimiento celular y métodos para determinación del mismo | 20 |
| F. Extracción de pigmentos | 22 |
| G. Extracción líquido-líquido | 22 |
| H. Espectrofotometría UV- visible | 23 |
| I. Mercado de oportunidad y aplicaciones | 24 |
| J. Tinción de textiles | 29 |
| K. Espacios de color RGB y CIE L*A*B | 30 |
| VI. METODOLOGÍA | 32 |

| | | |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------|-----|
| A. | Aislamiento de cepas microbianas del suelo | 32 |
| B. | Preparación de inóculos | 35 |
| C. | Formulación de medio de cultivo variando la concentración de fuente de carbono | 37 |
| D. | Fermentación para producción de pigmentos microbianos | 39 |
| E. | Determinación de crecimiento microbiano durante la fermentación | 40 |
| F. | Extracción de los pigmentos producidos | 41 |
| G. | Evaluación de rendimiento de la producción de pigmento | 42 |
| H. | Formulación de medio de cultivo variando la concentración de fuente de nitrógeno | 43 |
| I. | Formulación de medio de cultivo variando la concentración de fuente de fósforo | 45 |
| J. | Determinación de máxima absorción del pigmento producido | 48 |
| K. | Comparación de funcionamiento de pigmentos microbianos y comerciales | 48 |
| L. | Medición de la saturación del color | 49 |
| VII. | RESULTADOS | 51 |
| A. | Microorganismo A | 51 |
| B. | Microorganismo N | 56 |
| C. | Microorganismo R | 61 |
| D. | Balances de masa | 66 |
| E. | Saturación de color de textiles teñidos | 67 |
| VIII. | ANÁLISIS DE RESULTADOS | 71 |
| IX. | CONCLUSIONES | 84 |
| X. | RECOMENDACIONES | 86 |
| XI. | BIBLIOGRAFÍA | 88 |
| XII. | ANEXOS | 93 |
| A. | Datos originales | 93 |
| B. | Datos calculados | 123 |

| | | |
|----|----------------------------------------------------------------------------|-----|
| C. | Cálculos de muestra | 161 |
| D. | Análisis de error | 167 |
| E. | Datos de reactivos utilizados | 171 |
| F. | Especificaciones de los equipos utilizados | 175 |
| G. | Microorganismos utilizados | 179 |
| H. | Fases de curvas de crecimiento | 180 |
| I. | Pigmentos producidos | 181 |
| J. | Textiles teñidos | 184 |
| K. | Espectros a partir de espectrofotometría UV/VIS de cada pigmento producido | 187 |
| L. | Esquematización del proceso de producción y extracción de pigmentos | 201 |

LISTA DE CUADROS

| Cuadro | Página |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Cuadro 1: Bacterias y hongos productores de pigmentos y su aplicación directa en la industria.. | 12 |
| Cuadro 2: Color de absorción y reflexión por cada rango de longitud de onda dentro de las regiones ultravioleta UV y visible. | 24 |
| Cuadro 3: Diferentes bacterias productoras de pigmentos con su respectivo color y una amplia gama de bioactividades..... | 26 |
| Cuadro 4: Concentraciones de los reactivos utilizados para preparar las 3 formulaciones de medio de cultivo variando la concentración de fuente de carbono..... | 38 |
| Cuadro 5: Concentraciones de los reactivos utilizados para preparar las 3 formulaciones de medio de cultivo variando la concentración de fuente de nitrógeno. | 44 |
| Cuadro 6: Concentraciones de los reactivos utilizados para preparar las 3 formulaciones de medio de cultivo variando la concentración de fuente de fósforo. | 46 |
| Cuadro 7: Nueve formulaciones de medio de cultivo desarrolladas para el crecimiento y producción de pigmentos del microorganismo A. | 51 |
| Cuadro 8: Nueve formulaciones de medio de cultivo desarrolladas para el crecimiento y producción de pigmentos del microorganismo N. | 56 |
| Cuadro 9: Nueve formulaciones de medio de cultivo desarrolladas para el crecimiento y producción de pigmentos del microorganismo R..... | 61 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Cuadro 10: Saturación de color del textil teñido con pigmentos comerciales y pigmentos microbianos. | 67 |
| Cuadro 11: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo N variando la concentración de sacarosa. | 93 |
| Cuadro 12: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo N variando la concentración de extracto de levadura. | 94 |
| Cuadro 13: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo N variando la concentración de fosfato de potasio monobásico. | 95 |
| Cuadro 14: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo A variando la concentración de sacarosa. | 96 |
| Cuadro 15: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo A variando la concentración de extracto de levadura. | 97 |
| Cuadro 16: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo A variando la concentración de fosfato de potasio monobásico. | 98 |
| Cuadro 17: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo R variando la concentración de sacarosa. | 99 |
| Cuadro 18: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo R variando la concentración de extracto de levadura. | 100 |
| Cuadro 19: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo R variando la concentración de fosfato de potasio monobásico. | 101 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Cuadro 20: Peso del contendor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo N variando concentración de sacarosa..... | 102 |
| Cuadro 21: Peso del contendor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo N variando concentración de extracto de levadura. | 102 |
| Cuadro 22: Peso del contendor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo N variando concentración de fosfatos de potasio monobásico..... | 103 |
| Cuadro 23: Peso del contendor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo A variando concentración de sacarosa..... | 104 |
| Cuadro 24: Peso del contendor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo A variando concentración de extracto de levadura. | 104 |
| Cuadro 25: Peso del contendor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo A variando concentración de fosfatos de potasio monobásico..... | 105 |
| Cuadro 26: Peso del contendor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo R variando concentración de sacarosa..... | 106 |
| Cuadro 27: Peso del contendor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo R variando extracto de levadura..... | 106 |
| Cuadro 28: Peso del contendor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo R variando concentración de fosfatos de potasio monobásico..... | 107 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Cuadro 29: Peso del contendor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo N variando concentración de sacarosa..... | 108 |
| Cuadro 30: Peso del contendor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo N variando concentración de extracto de levadura..... | 108 |
| Cuadro 31: Peso del contendor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo N variando concentración de fosfatos de potasio monobásico..... | 109 |
| Cuadro 32: Peso del contendor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo A variando concentración de sacarosa..... | 110 |
| Cuadro 33: Peso del contendor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo A variando concentración de extracto de levadura..... | 110 |
| Cuadro 34: Peso del contendor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo A variando concentración de fosfatos de potasio monobásico..... | 111 |
| Cuadro 35: Peso del contendor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo R variando concentración de sacarosa..... | 112 |
| Cuadro 36: Peso del contendor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo R variando concentración de extracto de levadura..... | 112 |
| Cuadro 37: Peso del contendor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo R variando concentración de fosfatos de potasio monobásico..... | 113 |
| Cuadro 38: Luminosidad y colores primarios de la luz para determinar la saturación del color de textiles teñidos con pigmentos obtenidos de microorganismo N obtenidos a partir de histogramas de Adobe Photoshop..... | 114 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Cuadro 39: Luminosidad y colores primarios de la luz para determinar la saturación del color de textiles teñidos con pigmentos obtenidos de microorganismo R obtenidos a partir de histogramas de Adobe Photoshop. | 116 |
| Cuadro 40: Luminosidad y colores primarios de la luz para determinar la saturación del color de textiles teñidos con pigmentos obtenidos de microorganismo A obtenidos a partir de histogramas de Adobe Photoshop. | 118 |
| Cuadro 41: Luminosidad y colores primarios de la luz para determinar la saturación del color de textiles teñidos con pigmentos comerciales y del textil sin teñir obtenidos a partir de histogramas de Adobe Photoshop. | 120 |
| Cuadro 42: Valores de densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) de los pigmentos producidos por el microorganismo N para determinar su absorbancia máxima. | 121 |
| Cuadro 43: Valores de densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) de los pigmentos producidos por el microorganismo R para determinar su absorbancia máxima. | 121 |
| Cuadro 44: Valores de densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) de los pigmentos producidos por el microorganismo A para determinar su absorbancia máxima. | 122 |
| Cuadro 45: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo N variando la concentración de sacarosa. | 123 |
| Cuadro 46: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo N variando la concentración de extracto de levadura. | 124 |
| Cuadro 47: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo N variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico. | 125 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Cuadro 48: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo A variando la concentración de sacarosa. | 126 |
| Cuadro 49: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo A variando la concentración de extracto de levadura. | 127 |
| Cuadro 50: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo A variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico. | 128 |
| Cuadro 51: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo R variando la concentración de sacarosa. | 129 |
| Cuadro 52: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo R variando la concentración de extracto de levadura. | 130 |
| Cuadro 53: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo R variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico. | 131 |
| Cuadro 54: Pigmento producido por el microorganismo N variando la concentración de sacarosa. | 132 |
| Cuadro 55: Pigmento producido por el microorganismo N variando la concentración de extracto de levadura. | 132 |
| Cuadro 56: Pigmento producido por el microorganismo N variando la concentración de fosfato de potasio monobásico. | 133 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Cuadro 57: Pigmento producido por el microorganismo A variando la concentración de sacarosa. | 134 |
| Cuadro 58: Pigmento producido por el microorganismo A variando la concentración de extracto de levadura. | 134 |
| Cuadro 59: Pigmento producido por el microorganismo A variando la concentración de fosfato de potasio monobásico. | 135 |
| Cuadro 60: Pigmento producido por el microorganismo R variando la concentración de sacarosa. | 136 |
| Cuadro 61: Pigmento producido por el microorganismo R variando la concentración de extracto de levadura. | 136 |
| Cuadro 62: Pigmento producido por el microorganismo R variando la concentración de fosfato de potasio monobásico. | 137 |
| Cuadro 63: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo N variando la concentración de sacarosa. | 137 |
| Cuadro 64: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo N variando la concentración de extracto de levadura. | 138 |
| Cuadro 65: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo N variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico. | 138 |
| Cuadro 66: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo A variando la concentración de sacarosa. | 139 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Cuadro 67: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo A variando la concentración de extracto de levadura. | 139 |
| Cuadro 68: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo A variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico. | 140 |
| Cuadro 69: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo R variando la concentración de sacarosa. | 140 |
| Cuadro 70: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo R variando la concentración de extracto de levadura. | 141 |
| Cuadro 71: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo R variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico. | 141 |
| Cuadro 72: Biomasa obtenida del microorganismo N variando la concentración de sacarosa..... | 142 |
| Cuadro 73: Biomasa obtenida del microorganismo N variando la concentración de extracto de levadura. | 142 |
| Cuadro 74: Biomasa obtenida del microorganismo N variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico. | 143 |
| Cuadro 75: Biomasa obtenida del microorganismo A variando la concentración de sacarosa..... | 144 |
| Cuadro 76: Biomasa obtenida del microorganismo A variando la concentración de extracto de levadura. | 144 |
| Cuadro 77: Biomasa obtenida del microorganismo A variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico. | 145 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Cuadro 78: Biomasa obtenida del microorganismo R variando la concentración de sacarosa..... | 146 |
| Cuadro 79: Biomasa obtenida del microorganismo R variando la concentración de extracto de levadura..... | 146 |
| Cuadro 80: Biomasa obtenida del microorganismo R variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico..... | 147 |
| Cuadro 81: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo N variando la concentración de sacarosa..... | 147 |
| Cuadro 82: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo N variando la concentración de extracto de levadura..... | 148 |
| Cuadro 83: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo N variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico. | 148 |
| Cuadro 84: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo A variando la concentración de sacarosa..... | 149 |
| Cuadro 85: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo A variando la concentración de extracto de levadura..... | 149 |
| Cuadro 86: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo A variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico. | 150 |
| Cuadro 87: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo R variando la concentración de sacarosa..... | 150 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Cuadro 88: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo R variando la concentración de extracto de levadura..... | 151 |
| Cuadro 89: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo R variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico. | 151 |
| Cuadro 90: Saturación del color de textiles teñidos con pigmentos obtenidos del microorganismo N. | 152 |
| Cuadro 91: Saturación del color de textiles teñidos con pigmentos obtenidos del microorganismo R..... | 154 |
| Cuadro 92: Saturación del color de textiles teñidos con pigmentos obtenidos del microorganismo A. | 156 |
| Cuadro 93: Saturación del color de textiles teñidos con pigmentos comerciales y de textil sin teñir. | 158 |
| Cuadro 94: Absorbancia máxima de pigmentos producidos variando concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfato de potasio por el microorganismo A. | 159 |
| Cuadro 95: Absorbancia máxima de pigmentos producidos variando concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfato de potasio por el microorganismo N..... | 159 |
| Cuadro 96: Absorbancia máxima de pigmentos producidos variando concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfato de potasio por el microorganismo R. | 160 |
| Cuadro 97: Datos de agar tripticasa soya usado en el aislamiento de cepas microbianas del suelo. | 171 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Cuadro 98: Datos de caldo nutritivo usado en preparación de inóculos. | 171 |
| Cuadro 99: Datos de extracto de levadura usado en la formulación de medios de cultivo. | 171 |
| Cuadro 100: Datos de fosfatos de potasio monobásico usado en la formulación de medios de cultivo. | 171 |
| Cuadro 101: Datos de cloruro de sodio usado en la formulación de medios de cultivo..... | 172 |
| Cuadro 102: Datos de sulfato de amonio usado en la formulación de medios de cultivo. | 172 |
| Cuadro 103: Datos de sulfato de magnesio usado en la formulación de medios de cultivo. | 172 |
| Cuadro 104: Datos de cloroformo usado en la extracción de los pigmentos producidos. | 172 |
| Cuadro 105: Datos de éter usado en la extracción de los pigmentos producidos. | 173 |
| Cuadro 106: Datos de acetona usado en la extracción de los pigmentos producidos. | 173 |
| Cuadro 107: Datos de metanol usado en la extracción de los pigmentos producidos..... | 173 |
| Cuadro 108: Datos de anilina naranja usada en la extracción de los pigmentos producidos..... | 173 |
| Cuadro 109: Datos de anilina amarilla usada en la extracción de los pigmentos producidos. | 174 |
| Cuadro 110: Datos de anilina verde usada en la extracción de los pigmentos producidos. | 174 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Cuadro 111: Datos de balanza usada en aislamiento de cepas microbianas del suelo, preparación de inóculos, extracción de pigmentos producidos y comparación de funcionamiento de pigmentos. | 175 |
| Cuadro 112: Datos de estufa usada en aislamiento de cepas microbianas del suelo, preparación de inóculos, formulación de medios de cultivo y comparación de funcionamiento de pigmentos.... | 175 |
| Cuadro 113: Datos de autoclave usada en aislamiento de cepas microbianas del suelo, preparación de inóculos y formulación de medios de cultivo..... | 175 |
| Cuadro 114: Datos de campana de extracción usada en aislamiento de cepas microbianas del suelo, preparación de inóculos y fermentación para producción de pigmentos microbianos. | 176 |
| Cuadro 115: Datos de incubadora usada en aislamiento de cepas microbianas del suelo, preparación de inóculos y fermentación para producción de pigmentos microbianos. | 176 |
| Cuadro 116: Datos de balanza analítica usada en formulación de medios de cultivo, extracción de los pigmentos producidos y evaluación de rendimiento de la producción de pigmento. | 176 |
| Cuadro 117: Datos de espectrofotómetro UV/VIS usado en determinación de crecimiento microbiano durante la fermentación y determinación de máxima absorción del pigmento producido. | 177 |
| Cuadro 118: Datos de centrífuga usada en extracción de pigmentos producidos. | 177 |
| Cuadro 119: Datos de horno usado en extracción de pigmentos producidos y en evaluación de rendimiento de la producción de pigmento. | 177 |
| Cuadro 120: Datos de vortex usado en extracción de pigmentos producidos. | 178 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Cuadro 121: Datos de refrigeradora para almacenamiento de muestras obtenidas..... | 178 |
| Cuadro 122: Datos de cámara usada en medición de la saturación del color. | 178 |
| Cuadro 123: Datos de densitómetro usado en medición de la saturación del color. | 178 |
| Cuadro 124: Caracterización morfológica de colonias microbianas utilizadas a lo largo de la experimentación. | 179 |

LISTA DE FIGURAS

| Figura | Página |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Figura 1: Amplio rango de colores obtenidos a partir de pigmentos bacterianos. | 15 |
| Figura 2: Colores puros, muy saturados y poco saturados con respecto a un punto blanco de referencia. | 31 |
| Figura 3: Crecimiento del microorganismo A en las formulaciones 1, 2 y 3, para las cuales se varió la concentración de sacarosa. | 52 |
| Figura 4: Crecimiento del microorganismo A en las formulaciones 4, 5 y 6, para las cuales se varió la concentración de extracto de levadura. | 52 |
| Figura 5: Crecimiento del microorganismo A en las formulaciones 7, 8 y 9, para las cuales se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásico. | 53 |
| Figura 6: Pigmento producido (mg/mL) por microorganismo A en las formulaciones 1, 2 y 3, para las cuales se varió la concentración de sacarosa (g/L). | 53 |
| Figura 7: Pigmento producido (mg/mL) por microorganismo A en las formulaciones 4, 5 y 6, para las cuales se varió la concentración de extracto de levadura (g/L). | 54 |
| Figura 8: Pigmento producido (mg/mL) por microorganismo A en las formulaciones 7, 8 y 9, para las cuales se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásico (g/L). | 54 |
| Figura 9: Pigmento producido por microorganismo A en las formulaciones 1-3, 4-6 y 7-9, donde se varió concentración de sacarosa, de extracto de levadura y de fosfatos de potasio monobásico, respectivamente. | 55 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 10: Relación entre pigmento producido (mg/mL) y peso seco (mg/mL) obtenido del microorganismo A al finalizar cada fermentación por cada formulación desarrollada..... | 55 |
| Figura 11: Crecimiento del microorganismo N en las formulaciones 1, 2 y 3, para las cuales se varió la concentración de sacarosa..... | 57 |
| Figura 12: Crecimiento del microorganismo N en las formulaciones 4, 5 y 6, para las cuales se varió la concentración de extracto de levadura..... | 57 |
| Figura 13: Crecimiento del microorganismo N en las formulaciones 7, 8 y 9, para las cuales se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásicos..... | 58 |
| Figura 14: Pigmento producido (mg/mL) por el microorganismo N en las formulaciones 1, 2 y 3, para las cuales se varió la concentración de sacarosa (g/L)..... | 58 |
| Figura 15: Pigmento producido (mg/mL) por el microorganismo N en las formulaciones 4, 5 y 6, para las cuales se varió la concentración de extracto de levadura (g/L)..... | 59 |
| Figura 16: Pigmento producido (mg/mL) por el microorganismo N en las formulaciones 7, 8 y 9, para las cuales se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásico (g/L)..... | 59 |
| Figura 17: Pigmento producido por el microorganismo N en las formulaciones 1-3, 4-6 y 7-9, donde se varió concentración de sacarosa, de extracto de levadura y de fosfatos de potasio monobásico, respectivamente. | 60 |
| Figura 18: Relación entre pigmento producido (mg/mL) y peso seco (mg/mL) obtenido del microorganismo N al finalizar cada fermentación por cada formulación desarrollada..... | 60 |
| Figura 19: Crecimiento del microorganismo R en las formulaciones 1, 2 y 3, para las cuales se varió la concentración de sacarosa..... | 62 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 20: Crecimiento del microorganismo R en las formulaciones 4, 5 y 6, para las cuales se varió la concentración de extracto de levadura..... | 62 |
| Figura 21: Crecimiento del microorganismo R en las formulaciones 7, 8 y 9, para las cuales se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásicos. | 63 |
| Figura 22: Pigmento producido (mg/mL) por el microorganismo R en las formulaciones 1, 2 y 3, para las cuales se varió la concentración de sacarosa (g/L)..... | 63 |
| Figura 23: Pigmento producido (mg/mL) por el microorganismo R en las formulaciones 4, 5 y 6, para las cuales se varió la concentración de sacarosa (g/L)..... | 64 |
| Figura 24: Pigmento producido (mg/mL) por el microorganismo R en las formulaciones 7, 8 y 9, para las cuales se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásico (g/L)..... | 64 |
| Figura 25: Pigmento producido por el microorganismo R en las formulaciones 1-3, 4-6 y 7-9, donde se varió concentración de sacarosa, de extracto de levadura y de fosfatos de potasio monobásico, respectivamente. | 65 |
| Figura 26: Relación entre pigmento producido (mg/mL) y peso seco (mg/mL) obtenido del microorganismo R al finalizar cada fermentación por cada formulación desarrollada. | 65 |
| Figura 27: Balance de masa de la producción de pigmento a partir del microorganismo A en la formulación con la que se obtuvo mayor producción de pigmento. | 66 |
| Figura 28: Balance de masa de la producción de pigmento a partir del microorganismo N en la formulación con la que se obtuvo mayor producción de pigmento. | 66 |

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 29: Balance de masa de la producción de pigmento a partir del microorganismo R en la formulación con la que se obtuvo mayor producción de pigmento. | 67 |
| Figura 30: Cajas de Petri con colonias microbianas utilizadas a lo largo de la experimentación. | 179 |
| Figura 31: Fases de la curva de crecimiento del microorganismo A en las formulaciones 7, 8, 9, para las cuales se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásico (Figura 5 en sección de Resultados). | 180 |
| Figura 32: Fases de la curva de crecimiento del microorganismo A en las formulaciones 4, 5, 6, para las cuales se varió la concentración de extracto de levadura (Figura 4 en sección de Resultados). | 180 |
| Figura 33: Pigmentos producidos por el microorganismo N en las nueve formulaciones desarrolladas. | 181 |
| Figura 34: Pigmentos producidos por el microorganismo A en las nueve formulaciones desarrolladas. | 182 |
| Figura 35: Pigmentos producidos por el microorganismo R en las nueve formulaciones desarrolladas. | 183 |
| Figura 36: Muestras de textiles teñidos con pigmentos producidos por el microorganismo N en las nueva formulas desarrolladas. | 184 |
| Figura 37: Muestras de textiles teñidos con pigmentos producidos por el microorganismo R en las nueva formulas desarrolladas. | 185 |
| Figura 38: Muestras de textiles teñidos con pigmentos producidos por el microorganismo A en las nueva formulas desarrolladas. | 186 |

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 39: Muestras de textiles teñidos con pigmentos comerciales y textil sin teñir (blanco)... | 186 |
| Figura 40: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 1 producido por el microorganismo N. | 187 |
| Figura 41: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 2 producido por el microorganismo N. | 187 |
| Figura 42: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 3 producido por el microorganismo N. | 187 |
| Figura 43: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 4 producido por el microorganismo N. | 188 |
| Figura 44: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 5 producido por el microorganismo N. | 188 |
| Figura 45: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 6 producido por el microorganismo N. | 189 |
| Figura 46: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 7 producido por el microorganismo N. | 189 |
| Figura 47: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 8 producido por el microorganismo N. | 190 |
| Figura 48: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 9 producido por el microorganismo N. | 190 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 49: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 10 producido por el microorganismo R..... | 191 |
| Figura 50: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 11 producido por el microorganismo R..... | 191 |
| Figura 51: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 12 producido por el microorganismo R..... | 192 |
| Figura 52: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 13 producido por el microorganismo R..... | 192 |
| Figura 53: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 14 producido por el microorganismo R..... | 193 |
| Figura 54: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 15 producido por el microorganismo R..... | 193 |
| Figura 55: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 16 producido por el microorganismo R..... | 194 |
| Figura 56: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 17 producido por el microorganismo R..... | 194 |
| Figura 57: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 18 producido por el microorganismo R..... | 195 |
| Figura 58: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 19 producido por el microorganismo A. | 195 |

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Figura 59: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 20 producido por el microorganismo A. | 196 |
| Figura 60: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 21 producido por el microorganismo A. | 196 |
| Figura 61: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 22 producido por el microorganismo A. | 197 |
| Figura 62: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 23 producido por el microorganismo A. | 197 |
| Figura 63: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 24 producido por el microorganismo A. | 198 |
| Figura 64: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 25 producido por el microorganismo A. | 198 |
| Figura 65: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 26 producido por el microorganismo A. | 199 |
| Figura 66: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 27 producido por el microorganismo A. | 199 |
| Figura 67: Esquematización del proceso de producción y extracción de pigmentos a partir de un microorganismo. | 201 |

RESUMEN

La necesidad de una alternativa a la producción de pigmentos comerciales en la industria está creciendo, por lo que los pigmentos microbianos representan una solución versátil e innovadora. El objetivo de esta investigación fue extraer pigmentos microbianos y evaluar su funcionamiento como potencial alternativa a los fabricados convencionalmente. Para ello, se formularon nueve medios de cultivo para tres cepas aisladas del suelo (A, N y R). Posteriormente, se evaluaron los rendimientos de producción y extracción para finalmente comparar el funcionamiento de los mismos con los comerciales al teñir un textil definido. Se determinó que para la cepa A, la formulación con mayor producción de pigmento tiene concentración de sacarosa de 10 g/L, de extracto de levadura de 3 g/L y de fosfatos de 0.5 g/L. Se obtuvieron pigmentos amarillos y verdes, en donde el mayor rendimiento fue de 13.5 mg/mL. Para la cepa N, la formulación con mayor producción de pigmento tiene concentración de sacarosa de 30 g/L, de extracto de levadura de 3 g/L y de fosfatos de 1 g/L. Se obtuvieron pigmentos naranjas, en donde el mayor rendimiento fue de 25.3 mg/mL. Para la cepa R, la formulación con mayor producción de pigmento tiene concentración de sacarosa de 30 g/L, de extracto de levadura de 2 g/L y de fosfatos de 1.5 g/L. Se obtuvieron pigmentos amarillos, en donde el mayor rendimiento fue de 28.8 mg/mL. Los pigmentos microbianos obtenidos presentaron saturación del color entre 11.45% y 25.86% en el espacio de color RGB y entre 16% y 20% en el espacio de color CIE L*A*B, a diferencia de los comerciales con una saturación de 56.73% a 93.58%, en donde en promedio los pigmentos verdes presentan la menor saturación, seguido de los naranjas y los amarillos, respectivamente.

ABSTRACT

The need of an alternative of the production of synthetic pigments in the industry is growing, which is why microbial pigments represent a versatile and innovative solution. The goal of this investigation is to extract microbial pigments and evaluate their functionality as a potential alternative to the ones fabricated conventionally. To achieve this, nine culture media were formulated for three different microbial strains isolated from soil: A, N and R. Subsequently, production and extraction yield were evaluated to finally compare the functionality of these with the commercial pigments in a defined textile. It was determined that for strain A, the media culture formulation with higher pigment production has a saccharose concentration of 10 g/L, a yeast extract concentration of 3 g/L, and a phosphate concentration of 0.5 g/L. Yellow and green pigments were produced, where the higher yield was of 13.5 mg/mL. For strain N, the media culture formulation with higher pigment production has a saccharose concentration of 30 g/L, a yeast extract concentration of 3 g/L, and a phosphate concentration of 1 g/L. Orange pigments were produced, where the higher yield was of 38.8 mg/mL. For strain R, the media culture formulation with higher pigment production has a saccharose concentration of 30 g/L, a yeast extract concentration of 2 g/L, and a phosphate concentration of 1.5 g/L. Yellow pigments were produced, where the higher yield was of 28.8 mg/mL. Microbial pigments presented color saturation between 11.45% and 25.86% in RGB color space and between 16% and 20% in CIE L*A*B color space, in contrast of commercial ones with a color saturation between 56.73% and 93.58%, where in average green pigments present the lower color saturation, followed by orange and yellow pigments, respectively.

I. INTRODUCCIÓN

La necesidad de nuevos materiales en la industria, en especial en el área textil y alimenticia, está creciendo debido a los efectos negativos que producen en el medio ambiente y en la salud de los seres vivos en los diferentes ecosistemas. La mayoría de estos compuestos son cancerígenos y contribuyen a la bio acumulación en seres vivos. El desecho de estos pigmentos en afluentes sin tratar produce toxinas que persisten por un tiempo considerable al ser altamente estables y resistencias a condiciones extremas de luz, humedad, temperatura, entre otros. Los mismos son desechados ya que su manejo es caro y complejo, resultando en una remoción poco eficiente (Narsing, *et al.*, 2017; Venil, *et al.*, 2013).

A raíz de esto, se están explorando las alternativas que los pigmentos microbianos pueden brindar como solución a la problemática mencionada anteriormente. Estos provienen de microalgas, hongos u bacterias y se consideran compuestos no tóxicos, ni cancerígenos y degradables en el medio ambiente. Además, los microorganismos presentan un tiempo de ciclo de vida corto, se pueden modificar genéticamente con facilidad, tienen baja sensibilidad estacional y representan un proceso más sencillo de escalar. Estos presentan buenos rendimientos y con menores residuos que la industria tradicional de pigmentos comerciales o sintéticos (Venil, *et al.*, 2013).

El presente trabajo de graduación tiene como objetivo extraer pigmentos microbianos y evaluar su funcionamiento como potencial alternativa a los fabricados convencionalmente. Para el efecto, primero se desarrollan medios de cultivo diferentes para determinar el potencial de crecimiento microbiano de las cepas a evaluar mediante la variación de concentración de los compuestos más importantes en los medios: fuente de carbono, nitrógeno y fosfatos. Posteriormente, para extraer los pigmentos producidos para cada uno de los medios desarrollados y cepas microbianas se lleva a cabo una extracción líquido- líquido con diferentes solventes para poder obtener un rendimiento de producción por cada cepa utilizada. Esto permite obtener la mejor formulación de medio de cultivo para la producción de pigmento para, finalmente, comparar el funcionamiento de los pigmentos

microbianos y pigmentos comerciales al teñir un textil definido mediante técnicas de medición de la saturación del color utilizando un software de análisis de imágenes y color.

II. ANTECEDENTES

La investigación relacionada a los pigmentos microbianos y su aplicación es bastante limitada en Guatemala. Sin embargo, el tema ha tomado importancia significativa en los últimos años alrededor del mundo, en especial con bacterias ubicuas. Usman, *et al*, 2018, aislaron una bacteria productora de pigmento naranja del suelo de Abbattoir, Nigeria. Mediante pruebas bioquímicas e identificación molecular, identificaron que la misma era la bacteria *Salinococcus roseus* e intentaron optimizar la producción del pigmento. Obtuvieron que se obtuvo mayor producción de pigmento cuando se encontraban amino ácidos disponibles en el medio de cultivo, se utilizaba una temperatura de fermentación de 40° C y a pH 7. Realizaron extracciones del mismo con etanol y se determinó la estabilidad del pigmento evaluando diferentes condiciones de pH y temperatura. A través de espectrofotometría UV/VIS, determinaron que el pigmento presentaba una absorción máxima en 440 nm indicativo de zeaxantina. Debido a su estabilidad a pH 13 y temperatura de 200 °C, se determinó como viable para aplicaciones industriales.

Saxena y Kumar, 2019, aislaron bacterias de agua y suelo en India, en donde identificaron a las especies *Rhodococcus yunnanensis*, *Micrococcus roseus*, *Pseudomonas fluorescens* y *Sanguibacter antarcticus*. Se evaluó la máxima absorción de los pigmentos obtenidos mediante espectrofotometría UV/VIS, en donde la mayoría tuvieron máxima absorción en un rango de 400 a 500 nm, indicando que se obtuvieron carotenoides. Adicionalmente, comprobaron actividad antibacteriana de estos pigmentos, confirmando la misma mediante pruebas de Kirby Bauer, con halos de inhibición contra patógenos de hasta 35 ±0.2 mm.

Venil, *et al*, 2013 evaluaron que era posible aumentar la producción de pigmentos modificando las condiciones del medio de cultivo. En su investigación determinaron que al aumentar las concentraciones de KH_2PO_4 y de peptona en la producción de prodigiosina por *S. marcescens*, la misma aumenta de 273.3 mg a 2423.39 mg de pigmento por litro de medio utilizado: casi 9 veces más. También evaluaron que para producir violaceína de *Duganella* sp., al variar las concentraciones de nitrato de potasio, L- triptófano y extracto de carne para llegar a 1.62 g/L,

incrementando 4.8 veces la producción del tinte en comparación a la composición original del medio.

Bisht, *et al*, 2020, también evaluaron la aplicación de los pigmentos rojos de *Rhodonellum psychrophilum* aisladas de India en textiles tomando en cuenta acabados antimicrobianos y sobre salud y comida. Al extraer los pigmentos, se obtuvo un rendimiento de 7.4 mg/mL y los autores utilizaron los mismos para las pruebas consecuentes. Este pigmento bacteriano presentó color intenso y significativo en varios tipos de textiles, en donde, además, presentó actividad antifúngica, antibacterial, antioxidante, y sin citotoxicidad en líneas celulares humanas.

III. JUSTIFICACIÓN

Desde 1960, se observa un incremento en la popularidad de los colorantes naturales a raíz de la necesidad de aumentar la sensación de seguridad de los consumidores y del ambiente que los rodea. La demanda global de pigmentos orgánicos y de origen biológico en 2017 fue de 10 millones de toneladas y se propone un incremento en la demanda anual de 5-10%, comparado al de los sintéticos de 3-5%, de su mercado actual de \$33.2 mil millones. Hoy en día un amplio rango de industrias utiliza pigmentos o colorantes, en donde se pueden mencionar la industria alimenticia, textil, farmacéutica, etc. Los colorantes o pigmentos más utilizados actualmente son los sintéticos (por ello llamados comúnmente comerciales), en donde la producción de los mismos involucra procesos químicos exhaustivos, de los cuales un gran número de componentes terminan en aguas residuales. Se estima que hasta un 50% de los colorantes utilizados en la industria textil termina en las aguas descargadas por este sector industrial debido a su bajo grado de fijación en las telas, es decir entre 40,000 a 50,000 toneladas de colorantes (Sabbagh y Ebrahimzadeh, 2017; Venil, *et al*, 2013; Dias, *et al*, 2019).

Desafortunadamente, la mayoría de los tintes químicos, en muchos casos altamente tóxicos, evaden los procedimientos convencionales de tratamiento de agua y permanecen en el ambiente por tiempo indefinido como resultado a su alta estabilidad. Sumado a esto, hay una tendencia creciente de productos naturales de parte de los consumidores, por lo que en las industrias se ha buscado incluir los mismos. Una de las soluciones más prometedoras es la producción de pigmentos provenientes de microorganismos, como bacterias y hongos. Esta es una alternativa atractiva, ya que son materiales naturales, biológicos y de bajo costo. De igual forma, se usan y funcionan como antioxidantes, antimicrobiales, aditivos, intensificadores del color y anticancerígenos (Davis y Song, 2006; Ehrman, 2018; Ogugbue y Sawidis, 2011; Usman, *et al*, 2017; Sabbagh y Ebrahimzadeh, 2017).

Utilizar microorganismos como productores de pigmentos es una alternativa atractiva ya que los mismos son de fácil crecimiento y manutención. Además, se pueden encontrar los mismos en

cualquier ubicación y son ventajosos sobre los pigmentos naturales provenientes de material vegetal ya que no se compromete su uso como alimento. Este producto es de interés mundial, pero tiene un campo de aplicación amplio en Guatemala, ya que es un país con una industria textil y alimenticia fuerte (Narsing, *et al*, 2017).

Con este trabajo de graduación se evaluó el funcionamiento de pigmentos microbianos como potencial alternativa a los fabricados convencionalmente para su posible uso en la industria, específicamente como tintes textiles. La misma es una alternativa atractiva ya que se utilizaron cepas locales para producir pigmentos en las mejores condiciones para su producción tras evaluar distintas formulaciones de medios de cultivo. El trabajo también abre brecha sobre este tema a nivel nacional, ya que no es un tema investigado y analizado comúnmente por ser un producto proveniente de una fuente poco convencional.

IV. OBJETIVOS

A. General

Extraer pigmentos microbianos y evaluar su funcionamiento como potencial alternativa a los fabricados convencionalmente.

B. Específicos

1. Desarrollar nueve formulaciones de medios de cultivo para determinar el potencial de crecimiento microbiano de dos cepas a utilizar.
2. Evaluar el rendimiento de producción y extracción de pigmentos para cada una de las formulaciones y cepas microbianas.
3. Comparar el funcionamiento de los pigmentos microbianos y pigmentos comerciales al teñir un textil definido mediante técnicas de medición de la saturación del color.

V. MARCO TEÓRICO

A. Pigmentos comerciales

Un pigmento es un material que cambia su color de luz reflejada o transmitida como resultado de la absorción selectiva de una longitud de onda específica. Este difiere de la fluorescencia, fosforescencia y otras formas de luminiscencias, ya que en estos casos particulares los materiales emiten luz. Los humanos han estado interesados en colores desde los tiempos prehistóricos. El tinte de textiles se practicó durante la edad de Bronce en Europa. En el subcontinente Indio, sabían y conocían sobre la tinción desde la civilización del Valle Indus (2,500 .a.c) y Harappa (3,500 a.c.), en donde se encontraron telas coloreadas y trazas de tinte en ruinas. En Egipto, las momias se encontraban cubiertas en vendas con color. Además, en la India, se utilizaba henna antes del año 2,500 a.c. Tradicionalmente se usaban derivados de las plantas como paprika, bayas, indigo, azafrán curucuma, entre otras. Con la revolución industrial, William Henry Perkin introdujo los pigmentos sintéticos en 1856 y desde entonces se han hecho muchísimo más baratos y accesibles que los naturales, tomando el nombre común de pigmentos comerciales. Los tintes comerciales más comunes son las ftalocianinas (colores azules a verdes), amarillo ariluro (colores amarillos a verdes) y quinacridonas (colores naranjas a violetas). Estos son utilizados ya que son de bajo costo, incluso a altas concentraciones en bajos volúmenes, y no tienen aroma ni sabor. Entre las aplicaciones más comunes para los pigmentos comerciales está la industria textil y de cuero, la producción de papel, tecnología alimenticia, celdas foto electroquímicas, agricultura, industria de mariscos, cosméticos, colorantes para el cabello y actividad biológica y médica (Venil, *et al*, 2013; Usman, *et al*, 2017; Shaikh, 2016).

La búsqueda de alternativas a los pigmentos sintéticos o comerciales inició a mediados de la época pasada, cuando se demostró que los mismos causaban daño en los productos alimenticios. Muchos aditivos del color, cuando se iniciaron a utilizar hace años, no se analizaron adecuadamente, lo que después resultó en efectos adversos en el ambiente y en la salud. Algunos tintes sintéticos son prohibidos debido a que sus precursores o sus productos son cancerígenos, también afectando el desecho de la industria que los utiliza o produce al ecosistema. El peor caso en humanos puede ser una carcinogénesis, en donde estos aditivos sintéticos causan daño celular a

raíz de oxidación de las mismas, ocasionando inmunosupresión. El decremento de la demanda de los mismos va más agravado debido a que hay restricciones y prohibiciones en Europa de compuestos sintéticos como tintes azo, por ejemplo (Narsing, *et al.*, 2017; Venil, *et al.*, 2013; Usman, *et al.*, 2017; Sabbagh y Ebrahimzadeh, 2017).

Tintes como la tartacina, rojo cochinilla y amarillo atardecer provocan alergias por su cuenta o en combinación con otros colorantes. Aunque algunos habían sido aprobados anteriormente por la FDA para su uso en comida, medicina y cosméticos, se percataron más tarde que promovían cáncer y otras afecciones perjudiciales. Algunos han sido retirados del mercado por estos mismos peligros aparentes. Por ejemplo, los tintes de benzidina causan cáncer de colon, mientras que el negro carbón se piensa que es un potencial carcinógeno. Desde el punto de vista ambiental, el desecho en afluentes de tintes comerciales sin tratar produce toxinas y estas persisten por un tiempo prolongado debido a sus altos periodos de estabilidad. Además, se encuentran alrededor de 10,000 tintes sintéticos para textiles en afluentes industriales que se depositan en diferentes partes del mundo como micro contaminantes, que contribuyen a la bioacumulación en seres vivos. Se desechan en afluentes debido a que su manejo representa un alto costo y un proceso muy complejo, resultando en una remoción ineficiente (Narsing, *et al.*, 2017; Venil, *et al.*, 2013; Usman, *et al.*, 2017; Sabbagh y Ebrahimzadeh, 2017).

B. Pigmentos naturales: pigmentos microbianos

Antes de la existencia de los pigmentos sintéticos, los pigmentos naturales eran los únicos disponibles y se utilizaban para varios fines, incluyendo la tinción de fibras textiles, cosméticos y para usos artísticos. Estos se derivan comúnmente de la flora o fauna y se consideran seguros por no ser no tóxicos, cancerígenos o persistentes en el ambiente. Por estas razones, la demanda de pigmentos de esta índole está creciendo a diario. Los microorganismos que presentan el mayor potencial para brindar los mismos son las bacterias y los hongos, ya que forman parte de sus rutas metabólicas como bio productos. Se pueden extraer pigmentos naturales de varias especies de plantas también, pero el uso de estas no son viables, ya que no suelen ser perennes, y sus compuestos derivados no presentan estabilidad ni solubilidad en un amplio rango de sustratos. Además, producir pigmentos a partir de estas pueden ocasionar que se pierdan especies valiosas, siendo contraproducente al fin de conservar la biodiversidad. Este ha sido uno de los campos de investigación emergentes y con alto interés científico en los últimos años por el potencial que puede llegar a alcanzar en varias industrias (Narsing, *et al.*, 2017; Venil, *et al.*, 2013; Usman, *et al.*, 2017).

A partir de esto, se puede mencionar que los pigmentos naturales no solo tienen la habilidad de incrementar el atractivo mercantil de los productos, sino que también tienen ventajas y actividades biológicas antioxidantes y anticancerígenas. Otras de las razones por las cuales los colorantes microbianos están siendo producidos por la industria es que hay una influencia negativa de colorantes sintéticos junto con limitaciones y restricciones de manufactura de los mismos. Su éxito depende y va a depender de su aceptabilidad en el mercado y el tamaño del capital requerido para llevar el producto al consumidor. Este tipo de productos se percibían como algo lejano, pero hoy en día se producen pigmentos microbianos de grado alimenticio comercializados (Venil, *et al.*, 2013; Usman, *et al.*, 2017).

Los pigmentos naturales se pueden clasificar basados en sus características estructurales como derivados de tetrapirrol (clorofilas y hemecolores), derivados de isoprenoides (carotenoides e iridoides), compuestos heterocíclicos diferentes de los tetrapirroles (purinas, pterinas, flavinas, fenazinas, fenoxazinas y betalainas), derivados de benzopiran (antocianina y otros flavonoides) y quinonas (benzoquinona, naftoquinona, antraquinona y melaninas). Dentro de los mayores retos que presentan los mismos son que la mayoría requieren de mayor estabilidad a condiciones de calor, luz, acidez; hay un rango de colores establecido y no son altamente populares. Además, requieren material sustancial para conseguir la fuerza de color equivalente a los comerciales (Venil, *et al.*, 2020; Shaikh, 2016).

La presencia de pigmentos ha sido reportada en todo el rango microbiano: bacterias, hongos, levaduras, algas y protozoos. Vienen en una gran cantidad de colores y algunas son solubles en agua. Los pigmentos tienen un rol importante en la fisiología y procesos moleculares de los microorganismos productores. Por ejemplo, sin los mismos no podría llevarse a cabo la fotosíntesis con la clorofila o los carotenoides. Tampoco sería posible transportar oxígeno ni dióxido de carbono con hemoglobina. Durante condiciones de estrés, las plantas sintetizan flavonoides, quinonas de suma importancia para la conversión de luz en energía química. Asimismo, dan asistencia en la adaptación de condiciones ambientales y protección a la luz solar. La presencia o ausencia de los pigmentos también puede brindar asistencia en la clasificación y taxonomía del microorganismo. La producción y biosíntesis de pigmentos está asociado a factores ambientales y del cultivo en donde se están desarrollando los microorganismos: pH, concentración de fosfato inorgánico, temperatura, etc. Por ejemplo, la producción de prodigiosina incrementa en caldo nutritivo y de peptona glicerol a 30 °C. La diversidad de los pigmentos depende de las diferencias en la estructura química y en la presencia especial de cromóforos en estas estructuras. Una molécula orgánica

insaturada tiene un grupo de enlaces que hacen que la misma cambie la capacidad de absorción de luz a frecuencias más bajas. La presencia de estas sustancias resulta en la creación y manifestación del color. La variedad de estos materiales y de estas manifestaciones, que son comúnmente llamados colores raíz, crean un espectro de colores bastante amplio como los licopenos, betacarotenos y antocianinas (Sabbagh y Ebrahimzadeh, 2017; Selvi e Iyer, 2018; Shaikh, 2016).

De los pigmentos producidos por microorganismos reportados se producen más tonalidades rojas y amarillas de especies como *Monascus spp.* (*monascue*), *Phaffia rhodozuma*, *Micrococcus roseus*, *Brevibacterium linens* (carotenoides) y *Xanthomonas campestris* (xantomonadinas). No solo interesan los mismos para colorar, sino también para otras aplicaciones por su alto rango de actividades. Por ejemplo, la violaceína extraída de *Chromobacterium violaceum*, además de brindar un color violeta característico, presenta varios beneficios. Dentro de los mismos se puede mencionar que es citotóxica en células de cáncer de colon humano, anti ulcerogénico, anti viral, antibiótico, antitumoral, anti *Tripanosoma cruzi* e inmunoestimulador con potencial para ser aplicado en terapias inmunológicas. Por otro lado se considera que la prodigiosina de *S. marscences* es efectiva para el control de algas dañinas en ambientes marinos naturales y para la síntesis de células solares sensibles a tintes. Otros pigmentos utilizados en industrias específicas son la plocianina de *Pseudomonas aeruginosa* como tintes textiles y ficocianina de *Nostoc linckia* para la síntesis de nanopartículas de plata (Sabbagh y Ebrahimzadeh, 2017; Venil, Zakaria y Ahmad, 2013).

Los hongos filamentosos producen un amplio rango de pigmentos como carotenoides, melaninas, flavinas, fenazinas, quinonas, indigo, etc. Se utiliza *Monascus* para producir amarillo (ankaflavina y monascina) y naranja (rubropunctatina) con mayor frecuencia que otros pigmentos. Estos también poseen propiedades antimicrobiales, anticancerígenas, antimutagénicas y antiobesidad como los bacterianos (Narsing, *et al*, 2017).

Hay más de 200 especies de Fungi que reportan producción solo de carotenos, en donde se encuentran los géneros *Rhodospiridium spp.*, *Sclerotium spp.*, *Sclerotinia spp.*, *Sporidiobolus spp.*, y *Ustilago spp.* También se pueden mencionar ascomicetos como *Aspergillus spp.*, *Cercospora spp.*, *Penicillium spp.*, y *Aschersonia spp.* Debido a que los pigmentos provienen de hongos, estos pueden contener toxinas. Para evitar su producción, se han desarrollado varios métodos como la selección de cepas no patogénicas, en donde se evalúa la producción de toxinas, el control de la biosíntesis del metabolito investigando, la ruta metabólica y la selección del medio de cultivo

agregando o removiendo iones de metales, fuentes de carbono y nitrógeno que pueden afectar la producción (Narsing, *et al*, 2017).

Aparte de la producción de toxinas, los pigmentos deben de ser capaces de soportar pH y temperaturas extremas para cumplir con los requerimientos industriales. Muchos pigmentos fúngicos son estables a un rango amplio de pH y temperatura y, de la misma manera que las bacterias, los hongos también pueden producir pigmentos en sustratos de bajo costo (Panesar, *et. al.*, 2015).

Entre los géneros y especies de bacterias y hongos mayormente utilizados para este fin se encuentra: *Agrobacterium aurantiacum*, *Rhodotorula spp.*, *Chromobacterium violaceum*, *Serratia marcescens*, *Bacillus spp.*, *Flavobacterium spp.*, los cuales exhiben una gama de colores como rosado, rojo, amarillo, morado, café y amarillo (Narsing, *et al*, 2017). En el cuadro a continuación se pueden observar algunas otras especies utilizadas comunmente para la producción de pigmentos y su área de aplicación:

Cuadro 1: Bacterias y hongos productores de pigmentos y su aplicación directa en la industria.

| Fungi/Bacteria | Pigment | Application |
|---------------------------------------------------------|---------------|------------------------------------------------------|
| Bacteria | | |
| <i>Micromonospora lupine</i> | Anthraquinone | Antitumor agent |
| <i>Streptomyces sp.</i> | Carotenoid | Food-grade pigment |
| <i>Chromobacterium</i> | Violacein | Anti-tumor, anti-microbial, and anti-parasitic agent |
| <i>Chromobacterium sp.</i> NIIST (MTCC 5522) | Violacein | Antifungal agent |
| <i>Hymenobacter sp.</i> and <i>Chryseobacterium sp.</i> | Carotenoid | Photo-sensitizers in dye sensitized solar cells |
| <i>Streptomyces glaucescens</i> NEAE-H | Melanin | Anti-cancer agent and anti-oxidant |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Pyocyanin | Anti-microbial agent |
| <i>Hahella chejuensis</i> | Prodiginines | Antibiotic |
| <i>Pedobacter</i> | Carotenoid | Antioxidant |
| <i>Vogesella indigofera</i> | Blue pigment | Detect heavy metal |
| Fungi | | |
| <i>Aspergillus versicolor</i> | Asperversin | Antifungal agent |
| <i>Fusarium sp.</i> JN158 | Benzoquinon | Anticancer agent |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | Anthraquinone | Dyeing of wool fabrics |
| <i>Talaromyces verruculosus</i> | Red pigment | Dye textile having antimicrobial activity |
| <i>Stemphylium lycopersici</i> | Anthraquinone | Antioxidant |

Fuente: Narsing, *et al* (2017).

Es importante mencionar que hay un interés mayor por bacterias y hongos biotecnológicos que por las cepas de origen silvestre, ya que las últimas tienen un proceso económico demasiado alto y

el interés principal radica en aislar microorganismos que producen pigmentos en tiempos de fermentación más bajos. Se puede hacer mejora de las cepas con mutágenos como luz UV, etil metano sulfonato, nitrosoguanidina, etcétera (Venil, *et al.*, 2013; Usman, *et al.*, 2017).

C. Pigmentos bacterianos

La utilización de bacterias para la producción de pigmentos tiene varias ventajas sobre los producidos por otros microorganismos, como tiempo de ciclo de vida corto, modificación genética más sencilla, baja sensibilidad estacional y a cambio climático y más sencillos de escalar. De igual manera, los pigmentos bacterianos tienen mayor rendimiento y generan menos residuo. Además de lo mencionado anteriormente, los pigmentos de este tipo tienen un amplio rango de actividades, versatilidad sobre otros recursos utilizados convencionalmente, la alta velocidad y productividad de fermentación comparada con el método químico y sintético, la manipulación de genes facilitada de las cepas utilizadas y las técnicas de crecimiento simplistas y rápidas, permitiendo operaciones en un biorreactor continuo. Además, tienen la complejidad estructural adecuada para las necesidades industriales, al utilizar extracción líquido-líquido se minimiza los costos de operación y se puede utilizar sustratos baratos para la producción en masa de los mismos (Venil, *et al.*, 2013; Zhu, *et al.*, 2007; Peix, *et al.*, 2005; Liu, *et al.*, 2009; Nakamura, *et al.*, 2003).

Sin embargo, comparado con los fúngicos, los pigmentos bacterianos todavía están en etapa de investigación y desarrollo. Por esta razón, el trabajo en la producción de pigmentos bacterianos debe de ser intensificado para hacerlos disponibles para los mercados que los necesiten. Las bacterias que producen pigmentos se pueden aislar de varios ambientes y nichos ecológicos como tierra, arena, agua dulce y salada. También se reportó que las mismas se encuentran en regiones de altas y bajas temperaturas y en regiones salinas, por lo que son ubicuas. Es importante destacar que la producción de pigmentos ocurre en mayor medida en las actinobacterias (Venil, *et al.*, 2013; Zhu, *et al.*, 2007; Peix, *et al.*, 2005; Liu, *et al.*, 2009; Nakamura, *et al.*, 2003).

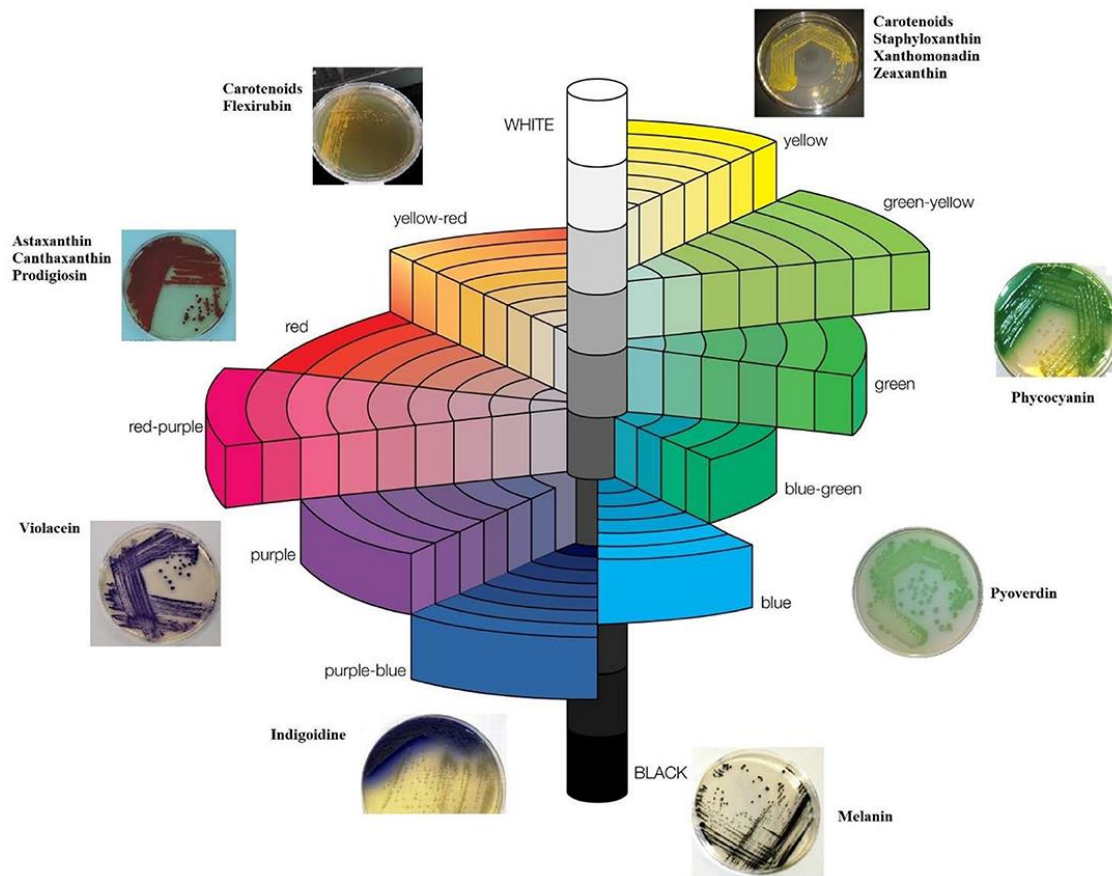
En 1954, se comercializó el primer pigmento carotenoide de *Cryptococcus*. Dentro de otras de las moléculas producidas por bacterias están las melaninas, flavinas, fenazinas, violeceina, prodigiosina e índigo. De mayor interés por el tema e investigación, se puede observar en la actualidad que entre los pigmentos producidos por algunas bacterias están la riboflavina (*Bacillus subtilis* para comida, leche vitaminada y bebidas energizantes) y beta carotenos (*Flavobacterium* y *Agrobacterium aurantiacum* para suplementos alimenticios y aditivos alimenticios para animales y peces). Entre los pigmentos más prometedores para el futuro y que se están investigando

actualmente por varias entidades se encuentran los indigoides, antraquinonas y naftoquinonas (Venil, *et al.*, 2013; Usman, *et al.*, 2017).

Cuando se busca producir este producto a partir de bacterias, hay que tomar en cuenta que varias de ellas producen pigmentos bajo ciertas condiciones ambientales, incluyendo interacción con otras bacterias en el ambiente circundante. Por ejemplo, *Pseudomonas aeruginosa* produce piocianina inducida por un cultivo con especies de *Enterobacter*. Entonces, la producción depende del medio de crecimiento e interacciones interespecíficas. Como se mencionó anteriormente y en el caso de las bacterias, se cree que la sobre producción de productos como pigmentos y enzimas puede ser logrado utilizando *quorum sensing* como estrategia. Esto es la respuesta de las bacterias a otras bacterias en su vecindad. Esto tiene gran potencial para la explotación industrial. Se puede controlar la producción por sistemas de *quorum sensing*, en donde las células bacterianas perciben la densidad celular por acumulación de moléculas señalizadoras. Por ejemplo, *Pantoea agglomerans* produce un pigmento azul oscuro cuando hay densidad celular alta de otras bacterias en agar G (Venil, *et al.*, 2013).

Dentro de los pigmentos bacterianos se incluyen a la astaxantina, cantaxantina, carotenoides, melaninas, indigoidina, favinas, prodigiosina, piocianina, entre otros, con propiedades anti oxidantes, anti cancerígenas, anti inflamatorias y anti obesidad, además de las pigmentativas. Este tipo de pigmentos se consideran como seguros y pueden ser utilizados en el campo de la salud humana y el ecosistema. Las bacterias producen un rango amplio de colores como rojos (*Serratia marcescens* y *Gordonia jacobaea*), rojo-amarillo (*Kocuria* sp. y *Chryseobacterium artocarpi*), amarillo (*Micrococcus*, *Hymenobacter* sp. y *Chryseobacterium* sp.), verde (*Pseudomonas* sp.), azul (*Corynebacterium insidiosum*, *Erwinia chrysanthemi* y *Vogesella indigofera*) y morado (*Chromobacterium* sp.) (Venil, *et al.*, 2020). Este se puede observar en la figura a continuación:

Figura 1: Amplio rango de colores obtenidos a partir de pigmentos bacterianos.



Fuente: Venil, *et al* (2020).

Dentro de los compuestos producidos con mayor regularidad se encuentran:

- Riblofavina: compuesto amarillo, soluble en agua, vitamina producida por varios microorganismos. Es usado en la comida de bebés, cereales de desayuno, pastas, salsas, queso procesado, bebidas de frutas, leche y algunas bebidas energizantes (Shaikh, 2016).
- Betacaroteno: las mayores fuentes potenciales de este compuesto son *Phycomyces* y *Mucor circinelloides* y se usa como colorante de comida y bebidas, y en aplicaciones farmacéuticas (Shaikh, 2016).
- Cantaxantina: producida como el mayor pigmento carotenoide por bacterias narnajas y rosada, ya que es una bacterioclorofila producida por los géneros *Bradyrhizobium* y *Halobacterium*. Son antioxidantes potentes, inhiben la oxidación de lípidos y se utiliza para la

pigmentación de la yema del huevo, en comidas y cosméticos que requieren un matiz más naranja-rojo (Shaikh, 2016).

- Carotenoides: son pigmentos de colores amarillo a naranja-rojo que son ubicuos en la naturaleza. Dentro de los géneros que los producen se encuentran *Serratia* y *Streptomyces*. Estos son efectivos como antioxidantes y son usados como colorantes de comida (Shaikh, 2016).
- Prodigiosina: es un pigmento rojo producido por *Serratia marcescens*, *Vibrio pshychoerythrus*, *Rugamonas rubra* y actinomicetos como *Streptoverticillium rubrreticuli*. Tienen actividad antibacterial, anti malarial, antineoplástico y antibiótico (Shaikh, 2016).
- Ficocianina: es un pigmento azul producido por cianobacterias que contienen clorofila a. Comercialmente tiene el nombre de espirulina y se utiliza como suplemento dietético rico en proteínas, ya que consiste de cianobacterias secas. Es utilizado en la coloración de productos lacteos, helados, goma de mascar, bebidas y postres (Shaikh, 2016).
- Violeceína: es un pigmento versátil de *Chromobacterium violaceum* que exhibe varias actividades biológicas. Ha incrementado su importancia en mercados industriales como de medicina, cosméticos, comida y textiles (Shaikh, 2016).
- Astaxantina: pigmento rojo-naranja producido por microorganismos como *Xanthophyllomyces dendrorhous*, *Heamatococcus pluvialis* y *Agrobacterium aurantiacum*. Se usa como suplemento y aditivo para pigmentar comida para salmón, cangrejos, camarones, pollo y en la producción de huevo (Shaikh, 2016).

D. Producción y escalamiento de pigmentos bacterianos

Los avances en procesos de fermentación han permitido que la producción de las bacterias pueda alcanzar escala industrial. Los problemas fundamentales a tratar son las dificultades económicas y de mercadeo. Estrategias alternativas como métodos de screening inteligentes, procesos fermentativos aptos, procesos down stream costo efectivos, mejora de las cepas por ingeniería genética deben de estar involucrados. La producción de pigmentos microbianos tiene dos enfoques: encontrar nuevas cepas productoras de pigmentos de diversos ambientes y mejorar su productividad; y lograr los rendimientos mejorados de la especie ya conocidas, ya sea por

mejoramiento de la cepa o por desarrollo del proceso. Se obtiene un rendimiento determinando la masa del pigmento extraído seco por unidad de volumen de la fermentación realizada (Venil, *et al*, 2020).

La producción de pigmentos depende de la bacteria y de sus parámetros fisicoquímicos durante la fermentación, por lo que es esencial analizar los pigmentos en laboratorio antes de escalarlos a fermentadores industriales. La formación de producto durante el escalamiento es influenciada por factores físicos, químicos y biológicos del crecimiento bacteriano. La mayor diferencia entre escalas en cuanto al estrés físico es la presión de operación. Entonces, a medida que aumenta el volumen del biorreactor, se crea un mayor gradiente de presión hidrostática. Esta afecta directamente en la actividad enzimática y permeabilidad de la membrana celular, factores que son vitales para la viabilidad celular y el flujo metabólico. Esta presión, además, incrementa la concentración de gases disueltos, por lo que afecta el pH del medio. El mayor estrés químico es la agitación no homogénea teniendo gradientes en parámetros como pH, temperatura, oxígeno disuelto y concentración de nutrientes (Venil, *et al*, 2020).

Para que este tipo de bioproducto sea viable y se pueda llevar a un escalamiento a nivel industrial, también es importante considerar varios aspectos para así reducir costos e incrementar su aplicabilidad. Los microorganismos pigmentados pueden venir de varios ambientes, en donde los mismos pueden cultivarse y purificarse. Pueden usarse varios medios de cultivo para aislarlos y luego desarrollar y propiciar su crecimiento. El problema con esto es el elevado costo de síntesis de medios de cultivos sintéticos, por lo que es necesario el desarrollo de medios especiales que presenten un bajo costo. El uso de residuos agroindustriales, por ejemplo, provee de medios para reducir el costo de los sustratos y contribuir al manejo circular de los recursos. Es importante mantener la materia prima libre de contaminantes, ya que pueden reducir la calidad del producto e incrementar las impurezas en todo el proceso. Además, hay que enfocarse en desarrollar cepas que puedan resistir pH y temperaturas extremas para cumplir con estándares industriales. Una vez producidos los pigmentos, es necesario llevar a cabo una purificación, en donde se pueden separar los mismos utilizando extracción con solventes y caracterización con técnicas analíticas como TLC, UV-vis, FTIR, NMR, HPLC (Venil, *et al*, 2013; Usman, *et al*, 2017; Venil, *et al*, 2020).

La producción de pigmentos de manera industrial por fermentación microbiana tiene varias ventajas: es más barata, tiene rendimientos más altos y ofrece potencial de mejoría mediante el uso de varias técnicas como la optimización de las condiciones de crecimiento o modificación genética.

Al contar con esta alternativa, el impacto ambiental se reduce significativamente, ya que da lugar a una disminución en la contaminación de aire, agua y el mal manejo de varios recursos esenciales (Usman, *et al*, 2017).

Varias bacterias producen sus pigmentos por las rutas de IPP, mevalonato y DXP. En pigmentos bacterianos, la ruta biosintética es crucial y es seguida de identificación e ingeniería de genes. Ya hay bastante éxito con la ingeniería metabólica y es el inicio de una producción biotecnológica sustentable. Por ejemplo, *Streptomyces coelicor* produce un pigmento azul llamado actinorhodina y puede ser modificado genéticamente para producir un policétido llamado kalafungina de color amarillo brillante. Estos también se pueden modificar genéticamente para que produzcan antraquinonas rojas-amarillas. Es importante tomar en consideración que los pigmentos producidos tienen que ser estables cuando se exponen a estreses ambientales como luz ultravioleta (UV). Esto se debe a que la luz UV inicia una reacción de radicales libres que lleva a la degradación de estos compuestos (Venil, *et al*, 2013; Usman, *et al.*, 2017; Venil, *et al*, 2020).

Los objetivos de desarrollo de cepas van a ser incrementadas por biología genómica, proteómica y sistémica. Se pueden usar microorganismos recombinantes para la producción de pigmentos biológica. Esto permite modificar los componentes activos de varias rutas para desarrollar pigmentos con propiedades farmacéuticas atractivas. Las fábricas celulares para producir efectivamente pigmentos se desarrollaron por expresión heteróloga por rutas biosintéticas de productores de pigmentos conocidas. La ruta biosintética para pigmentos microbianos es entendida completamente por identificación e ingeniería de genes por sobreproducción. Una de las maneras de hacer el proceso costo efectivo es clonar el gen de biosíntesis de pigmentos en vectores microbianos como *E. coli*, *B. subtilis*, *P. putida*, *P. pastoris*, etc. La ingeniería genética de las bacterias para producir niveles más altos de pigmentos es alta a través de biotecnología. Este ya es el caso de la sobreproducción de licopeno e isoprenoides, que fueron modificadas así para tener significancia industrial. Además de todo lo mencionado anteriormente, hay pigmentos como la melanina que tienen varias aplicaciones y son utilizados en cosméticos, lentes, protectores solares y se produce en *Bacillus sp.* *Pseudomonas sp.* también se utiliza para producir cepas recombinantes para el tratamiento de melanoma metastásica. Por ejemplo, la empresa Amgen logró, mediante la utilización de ingeniería genética, utilizar *E. coli* para incrementar dramáticamente la producción del pigmento índigo en tanques de fermentación (Narsing, *et al*, 2017; Venil, *et al*, 2013; Usman, *et al*, 2017; Venil, *et al*, 2020).

Entre los retos para producirlo a gran escala se encuentra cultivar una gran cantidad de medios, en donde se requieren miles de placas Petri e incubadoras. Esto se puede resolver mediante el uso de tanques de fermentación. Esto ya se usa en la industria farmacéutica, de salud animal y en agricultura para generar productos microbianos. En la fermentación, se han probado dos enfoques: encontrar microorganismos como nuevas fuentes de colores y mejorando las fuentes ya conocidas utilizando cepas modificadas o por medio de la optimización de los parámetros del proceso para maximizar el rendimiento de producción. El uso apropiado de la fermentación con ingeniería metabólica y genética puede hacer realidad y factible la producción en masa de los colorantes biogénicos. Optimizar la fermentación también es de lo más importante para lograr niveles altos de producción. La optimización del medio es uno de los procesos más importantes para conseguir el máximo rendimiento de producción de pigmentos e incluye varios factores a considerar como los componentes del medio, condiciones de operación, pH, temperatura, aeración y agitación. También está relacionada al tipo de fermentación (sólido o sumergido). Es importante notar que el medio de cultivo tiene que constituir principalmente de una fuente de carbono y nitrógeno ventajosa para el microorganismo utilizado, ya que su desempeño depende de las concentraciones y del tipo de materia prima. Dentro de las fuentes de carbono más utilizadas se encuentra glucosa, sacarosa, fructosa, arabinosa, entre otras. Dentro de las fuentes de nitrógeno más utilizados se encuentran el extracto de levadura, la peptona, sulfato de amonio, etc. Además, es importante tomar en consideración que se necesitan nutrientes en menores cantidades necesarias para las funciones metabólicas, como fosfatos, magnesio, sales reguladoras de ósmosis, entre otras (Dias de Oliveira, *et al*, 2019; Venil, *et al*, 2013; Usman, *et al*, 2017).

Por ejemplo, dentro de los componentes del medio, al aumentar las concentraciones de KH_2PO_4 y de peptona en la producción de prodigiosina por *S. marcescens*, la misma aumenta de 273.3 mg a 2423.39 mg de pigmento por litro de medio utilizado: casi 9 veces más. También se puede mencionar que para producir violaceina de *Duganella sp.*, se variaron las concentraciones de nitrato de potasio, L- triptófano y extracto de carne para llegar a 1.62 g/L, incrementando 4.8 veces la producción del tinte en comparación a la composición original del medio. La elección de los sustratos utilizados es altamente influenciada por el costo, por lo que hay que elegir uno barato y eficiente. Se pueden utilizar desechos como el suero de leche, melaza, araba de glucosa y celobiosa ya que reducirían el costo considerablemente. Desarrollar un proceso para la producción máxima de pigmentos, estandarizar un medio y las condiciones de fermentación es crucial (Venil, *et al*, 2013).

La optimización del medio puede llegar a ser costosa en tiempo y dinero, ya que las correlaciones posibles entre tipos de fuentes de nutrientes y concentraciones son infinitas, pero se puede volver más efectiva y económica con el uso de métodos matemáticos y estadísticos. Se puede usar metodología de respuesta de superficie RSM para mejorar los parámetros de fermentaciones evitando la adición innecesaria de componentes al medio y cumpliendo con la demanda de nutrientes para las bacterias productoras de pigmentos. Además, estos evalúan la concentración de los componentes del medio para que se alcance la máxima producción. Bajo la optimización de fuentes de carbono y nitrógeno, la producción de pigmentos alta puede ser lograda. Además del RSM, se utilizan otros métodos de modelaje como ANNs que son redes neuronales artificiales, PSO que es optimización “particle swarm”, entre otros (Venil, *et al*, 2020).

Además de las tácticas en mejoramiento de las cepas, condiciones de fermentación, ingeniería metabólica y técnicas de extracción fáciles, es necesario producir pigmentos con alta estabilidad. Además de esto, algunos de ellos también están limitados por solubilidad, punto de fusión y baja biodisponibilidad. Por ello, se han desarrollado varias técnicas para producir pigmentos estables con vida útil incrementada y con alto potencial de mercado. Entre las soluciones se encuentra la encapsulación, en donde se atrapan los componentes en micropartículas que son de baja viscosidad, con propiedades emulsificantes, biodegradables, de baja higroscopicidad y bajo costo. Dentro de los materiales más utilizados en las micropartículas se pueden mencionar las maltodextrinas, el almidón modificado y la inulina. Esto permite que tengan mayor estabilidad protegiéndolos de luz, temperatura, humedad y oxígeno. Además, pueden hacerse nano emulsiones, en donde se encapsulan los pigmentos en una mezcla de agua, aceite y emulsificante (Venil, *et al*, 2020).

E. Crecimiento celular y métodos para determinación del mismo

El crecimiento de microorganismos se refiere al aumento del número de estos durante un periodo de tiempo. No se refiere al crecimiento de un organismo específico, sino a un aumento demográfico. Este tipo de crecimiento es de carácter exponencial, ya que el número de células de la población microbiana se duplica durante un periodo fijo. Para que se dé este ciclo, el medio de cultivo debe ser el adecuado, sin limitación de nutrientes y sin productos tóxicos de desecho (Vélez, Rodríguez, Estrada y Pérez, 2005).

El crecimiento microbiano consta de cuatro fases distintas en las que el microorganismo se encuentra con condiciones diferentes: de latencia, exponencial, estacionaria y de declinación y muerte. En la fase de latencia, la bacteria se adapta a su nuevo medio adquiriendo y aumentando su

capacidad metabólica. Hay aumento de volumen, pero no división. En la fase exponencial, la curva muestra una inflexión debido a que la bacteria presenta un crecimiento acelerado. Aquí, el tiempo necesario de división va disminuyendo y la velocidad de división alcanza su máximo número de generaciones por hora. Hay una relación lineal entre el tiempo y el número de células (Widdel, 2007; Pumarola, 2009; Negroni, 2009).

En la fase estacionaria, los microorganismos encuentran dificultades para continuar dividiéndose debido a que comienzan a escasear los nutrientes, por lo que el número de bacterias que se dividen equivalen a las que mueren. Esto representa una línea horizontal en las curvas de crecimiento. En esta fase se desarrollan los metabolitos secundarios, antibióticos, toxinas, etc. En la última fase, la de declinación y muerte, las condiciones del medio dejan de ser óptimas para el crecimiento, pues hay falta de nutrientes y se da la producción de ciertas toxinas, por lo que la cantidad de bacterias que mueren es mayor a las que se dividen (Pumarola, 2009).

El crecimiento de una población de microorganismos puede medirse estimando el incremento de la masa celular, o sea el aumento del número de células; para ello se utilizan los métodos para la medida de la masa celular, como determinación por medio de peso seco o determinación por métodos turbidimétricos, y métodos para la medida del número de células, como recuento en la cámara de Petroff-Hausser, recuento con contador de Coulter, recuento en placa y sobre filtros de membrana (Aranda, Cabrera y Chairez, 2008).

También se pueden clasificar como métodos directos e indirectos. Los métodos directos incluyen cámaras de recuento, recuentos en filtros de membrana, contadores electrónicos o por siembra de diluciones en medios sólidos. Los métodos indirectos incluyen métodos turbidimétricos y métodos químicos. El instrumento mayormente utilizado en el método turbidimétrico es el espectrofotómetro ya que entre mayor cantidad de bacterias, más turbio se vuelve el medio y la luz del equipo alcanza menos a la celda dando el resultado en términos de densidad óptica medida a 600 nm. Con estos resultados, el crecimiento bacteriano puede expresarse mediante una curva que relacione la densidad óptica, es decir la medición de la concentración de células, con el tiempo de crecimiento para formar una curva de crecimiento (Tortora, Funke y Case, 2007; Pumarola, 2009).

F. Extracción de pigmentos

La extracción de los pigmentos es relativamente pura y la concentración es el mayor reto. Los microorganismos producen dos tipos de pigmentos: los que están dentro de los mismos y los que son secretados en el medio de fermentación. Los que están dentro se pueden extraer disrumpiendo la membrana del microorganismo con acetona u otros métodos mecánicos o químicos y los secretados se pueden recuperar extrayendo el medio acuoso con cantidades considerables de solventes orgánicos mediante una extracción líquido-líquido. Para mitigar el uso de solventes orgánicos, se pueden hacer separaciones alternativas como secado en spray (común en industria alimenticia), extracción en fase sólida (común en la industria química), secado por tambor y liofilización. Además de los métodos de extracción mencionados anteriormente, también se pueden incluir la homogeneización, el método de congelamiento, ultrasonificación y el método de Soxlet. En la extracción con solventes, entre los más comunes se pueden mencionar el etanol, etil acetato, cloroformo y metanol por su costo y efectividad (Sabbagh y Ebrahimzadeh, 2017; Venil, *et al*, 2013; Usman, *et al*, 2017).

La recuperación y separación de los pigmentos tienen muchos cuellos de botellas que detienen o hacen más difícil la preparación a gran escala. El método convencional es la extracción líquido-líquido. Para eliminar los problemas con los solventes, se pueden utilizar aceites vegetales como el de girasol (en el caso de carotenoides, por ejemplo) eliminando las posibles reacciones tóxicas por trazas de acetona, hexano u otro solvente tóxico (Venil, *et al*, 2013; Usman, *et al*, 2017).

G. Extracción líquido-líquido

En la extracción líquido-líquido se da la transferencia de un soluto de un solvente a otro. El soluto es extraído de un solvente a otro porque el soluto es más soluble en el segundo solvente que en el primero. Los dos solventes no deben de ser miscibles, y deben de formar dos fases o capas separadas para que el procedimiento funcione. Este tipo de técnica se utiliza en la extracción de varios productos, en donde para separar algo con un solvente miscible en agua se puede usar éter o dietil éter, o a veces se necesitan solventes immiscibles en agua en donde se usa éter de petróleo, hexano, cloruro de metileno, etc. Un proceso de extracción generalizada se realiza con ampollas de decantación. En este caso el primer solvente contiene el soluto de interés y se le agrega el solvente no miscible. Se agita el mismo y las fases se separan. El solvente menos denso se posiciona en la capa de arriba y debido a las propiedades físicas diferentes el soluto de interés es más soluble en el segundo solvente y se separa (Pavia, *et al*, 2011).

H. Espectrofotometría UV- visible

La espectrofotometría UV- visible es una técnica utilizada para determinar la concentración de compuestos en una solución, llamada blanco. Su función analítica se basa en que las moléculas absorben la radiación electromagnética y a su vez la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración de ese compuesto en solución. El equipo utilizado para llevar a cabo las lecturas es un espectrofotómetro, en la cual se establece una longitud de onda de la luz que puede pasar a través de una solución y así medir la cantidad de luz absorbida por la misma. Su fundamento se basa en la capacidad de las moléculas para absorber radiación y dentro de ellas las que se encuentran dentro del espectro UV-visible. Las longitudes de onda de la radiación que una molécula puede absorber y la eficiencia con la que lo hacen depende de la estructura atómica y molecular de las condiciones del medio en el que se encuentra. Esto permite que sea una técnica utilizada en la determinación y caracterización de moléculas biológicas (Díaz, *et. al*, 2020; Helmut, 2013).

Las moléculas tienen la capacidad de absorber energía y almacenarla. Cuando la luz, es decir energía, es absorbida por las mismas, pasan de un estado basal a un estado excitado con mayor energía. Estos estados excitados representan una serie de bandas que distinguen a cada molécula del resto. Es por ello, que es utilizado para identificar varios compuestos, ya que al obtener un espectro de absorción, se tiene un mapa particular para cada uno. En espectroscopia, no solo se toma en consideración la luz visible, sino también las formas UV e IR, que son invisibles. Estas incluyen a las regiones del ultravioleta (195 a 400 nm) y el visible (400 a 780 nm) (Díaz, *et. al*, 2020; Helmut, 2013).

En el caso de pigmentos microbianos, la región visible es la que nos interesa, en donde apreciamos el color visible de una solución y que corresponde a las longitudes de onda de luz que transmite, no que absorbe. Por tanto, para realizar mediciones de absorción es necesario utilizar la longitud de onda en la que absorbe luz la solución a analizar. La fuente de radiación visible suele ser una lámpara de tungsteno y no proporciona energía suficiente por debajo de 320 nm. Es interesante mencionar que el color que absorbe es el complementario del color que transmite (Díaz, *et. al*, 2020). A continuación, se puede observar un cuadro en donde se puede notar el color de luz que se refleja por cada rango de longitud de onda:

Cuadro 2: Color de absorción y reflexión por cada rango de longitud de onda dentro de las regiones ultravioleta UV y visible.

| Longitud de onda (nm) | Color de luz que absorbe | Color de luz que se refleja o se ve |
|-----------------------|--------------------------|-------------------------------------|
| 390- 435 | Violeta | Amarillo verdoso |
| 435-490 | Azul | Amarillo |
| 490-580 | Verde | Rojo |
| 580-595 | Amarillo | Azul |
| 595-650 | Naranja | Azul verdoso |
| 650-780 | Rojo | Verde azulado |

Fuente: Díaz, *et. al* (2020).

I. Mercado de oportunidad y aplicaciones

Desde 1960, no se ve que los colorantes naturales vayan en decremento en cuanto a su popularidad a raíz de la necesidad de aumentar la sensación de seguridad de los consumidores y del ambiente que los rodea. La demanda actual de estos pigmentos y tintes va a tener un incremento anual del 5% desde el 2020 hasta el 2027 de su mercado actual de \$33.2 mil millones. Además, es importante mencionar que favorece el hecho que los gobiernos alrededor del mundo hayan permitido en los últimos años más flexibilidad sobre el tema. Es importante recalcar que para este tipo de producción la biotecnología es clave, ya que la misma hace que el proceso general sea más barato, la extracción sea más fácil, haya alta disponibilidad de materias primas y que con todo esto, los rendimientos sean bastante altos a nivel industrial (Sabbagh y Ebrahimzadeh, 2017; Venil, *et al*, 2013).

Hay preferencia por pigmentos bacterianos en la industria de alimentos, textiles, farmacéuticos y cosméticos. Por ejemplo, el betacaroteno producido por bacterias cuesta \$1000 por kg, mientras que el sintético \$500 por kg, por lo que su modo de competencia es solo en donde les sea importante que el pigmento sea natural. Como se mencionó anteriormente, al mejorar las bacterias y hongos y sus condiciones de crecimiento, los precios de estos pigmentos pueden ser reducidos mediante la utilización de desechos como los provenientes de piña, caña, bagazo y melaza como medio de cultivo, bacterias silvestres aisladas localmente y técnicas de extracción sencillas. La demanda global de pigmentos y tintes orgánicos en 2017 fue de 10 millones de toneladas y se propone un incremento en la demanda anual de 5-10%, comparado al de los sintéticos, de 3-5%. La industria

más grande de consumo de los tintes y pigmentos es la textil, pero se espera mayor crecimiento en tintas, pinturas, plásticos y recubrimientos (Venil, *et al*, 2013; Usman, *et al*, 2017).

Los pigmentos microbianos, a pesar de ser caros, compiten con los sintéticos por ser seguros y naturales. Actualmente, la industria textil es el mayor consumidor, aunque la alimenticia también es grande. Se considera como un mercado con oportunidad de negocio ya que se estima que el mercado de pigmentos llegó a adquirir a un valor estimado de \$1.15 mil millones en 2007. Entre los más solicitados están los carotenoides, ya que se estimó en 2018 que los mismos alcanzaron un mercado de \$1.4 mil millones. Además, en el caso de estos compuestos mencionados anteriormente, como la astaxantina, beta caroteno, cantaxantina, luteína, licopeno y la zeaxantina, se estima que su potencial del mercado global entre 2018- 2024 para comidas, bebidas, farmacéuticos, cosméticos, comida de animales y suplementos son de 26.1%, 9.2%, 6.5%, 34.8% y 23.5% respectivamente (Narsing, *et al*, 2017; Venil, *et al*, 2020).

En cuanto a la industria alimenticia, hay prospecto prometedor por la naturaleza peligrosa de los colorantes comerciales, por lo que se están buscando sustitutos para los colorantes como amarillo atardecer, tartrazina y amarillo quinolina. La zeaxantina se usa como aditivo, astaxantina en crustáceos para mejorarles el color rojo de los caparzones y riboflavina en bebidas, postres y helados. Los carotenoides también se usan para mantener la calidad de las comidas protegiéndolas de luz solar intensa y del estrés oxidativo. Todos estos son considerados como seguros y aprobados por agencias regulatorias. Ya hay avances que mencionan que la FDA (Food and Drug Administration) y EFSA (European Food Safety Authority) han aprobado pigmentos como riboflavina de *Ashbya gossypii*, beta caroteno y licopeno de *Blakeslea trispora*, rojo rosado de *Penicillium oxalicum* y astaxantina de *Xanthophyllomyces dendrorhous*. En el caso de estas dos agencias, un procedimiento de evaluación es requerido para el color, en donde se describen pruebas de toxicidad estrictas antes de siquiera ser considerados para evaluación (Venil, *et al*, 2020).

En cuanto a la industria farmacéutica, los pigmentos bacterianos han demostrado tener eficiencia para tratar varias enfermedades y, además, tienen propiedades antimicrobiales, anti cancerígenas e inmuno supresivas. Tienen usos clínicos para diagnosticar enfermedades como cáncer, leucemia, diabetes, entre otras afecciones graves. Los componentes con mayor actividad antibacteriana son los rojos, seguidos de naranja, amarillo y verde. Dentro de los compuestos bioactivos más comunes se pueden mencionar a la prodigiosina, violaceína, flexirubina, carotenoides y piocianina. Además, protegen la piel humana de la radiación UV, como es el caso de la melanina. Además, pigmentos

como los xantófilas actúan como nutraceuticos que previenen cáncer, ataques al corazón y derrames. La prodigiosina tiene propiedades anticancerígenas, antibacteriales, antifúngicas, antiprotazoales, citotóxicas y antiinflamatorias. El pigmento de *Hahella chejuensis* tiene propiedades immuno supresivas y antitumorales. Asimismo, derivados de antraquinona aislados de *Alternaria sp.* mostró actividad anti cancerígena en contra de líneas celulares de cáncer de mama. La riboflavina se ha usado como tratamiento para migraña, malaria y Parkinson (Venil, *et al*, 2020). En el siguiente cuadro se pueden observar diferentes bacterias productoras de pigmentos con una amplia gama de bioactividades:

Cuadro 3: Diferentes bacterias productoras de pigmentos con su respectivo color y una amplia gama de bioactividades.

| Bacteria | Pigmento | Color | Bioactividad | Referencias |
|-----------------------------------|----------------|------------------|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| <i>Agrobacterium aurantiacum</i> | Astaxantina | Rosado-Rojo | Antioxidante, anticáncer | Ambati et al., 2014 |
| <i>Paracoccus carotinifaciens</i> | | | Anti-inflamatorio, antioxidante, anticáncer | |
| <i>Bacillus cereus</i> | Azanfenantreno | Verde | Anticáncer, antibacterial, tinte textil | Banerjee et al., 2011 |
| <i>Rhodococcus maris</i> | Beta-caroteno | Azul-Rojo | Paraa tratar desordenes como protoporfiria eritropoyética | Kirti et al., 2014 |
| <i>Kocuria sp.</i> | Carotenoides | Amarillo | Reduce el riesgo de cnacer de mama, actividad anticáncer | |
| <i>Bradyrhizobium sp.</i> | Cantaxantina | Naranja | Antioxidante, anticáncer | Dufossé, 2006; Ram et al., 2020 |
| <i>Lactobacillus pluvialis</i> | | | | |
| <i>Chryseobacterium artocarpi</i> | Flexirubina | Naranja-Amarillo | Tratamiento para enfermedades de la piel crónica, eczema, úlceras gástricas | Venil et al., 2015 |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> | Granadina | Naranja-Rojo | Antioxidante, detoxifica ROS | George and Nizet, 2009 |

| Bacteria | Pigmento | Color | Bioactividad | Referencias |
|------------------------------------|----------------------|-----------------|----------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| <i>Proteobacteria</i> | Heptil prodigiosina | Rojo | Antiplasmodial | Lazaro et al., 2002 |
| <i>Corynebacterium insidiosum</i> | Indigoidina | Azul | Protección de estrés oxidativo | Reverchon et al., 2002; Chu et al., 2010 |
| <i>Erwinia chrysanthemi</i> | | | Antioxidante, antimicrobial | |
| <i>Pseudomonas guinea</i> | Melanina | Negro | Actividad antioxidante | Tarangini y Mishra, 2013 |
| <i>Pseudomonas</i> sp. | Fenazina | Amarillo | Control biológico | Arseneault et al., 2013 |
| <i>Pseudomonas</i> sp. | Ficocianina | Azul, Verde | Citotoxicidad, apoptosis neutrófila, proinflamatorio | Murugan, 2012 |
| <i>Serratia marcescens</i> | Prodigiosina | Rojo | Anticáncer, separación de ADN, inmunosupresor | Melvin et al., 2000; Deorukhkar et al., |
| <i>Pseudoalteromonas rubra</i> | | | | 2007; Feher et al., 2008 |
| <i>Bacillus</i> sp. | Riboflavina | Amarillo | Suplemento nutricional | Lim et al., 2001 |
| <i>Bacillus subtilis</i> | Riboflavina | Amarillo | Aditivo alimenticio | Schwechheimer et al., 2016 |
| <i>Streptomyces echinoruber</i> | Rubrolona | Rojo | Antimicrobial | Dharmaraj et al., 2009 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Staphyloxantina | Dorado | Antioxidante, detoxifica ROS | Liu et al., 2005; Clauditz et al., 2006 |
| <i>Cytophaga/Flexibacteria</i> | Triptantrina | Amarillo oscuro | Antioxidante, anticáncer | Solieve et al., 2011 |
| <i>Strptomycetes</i> sp. | Undecil prodigiosina | Rojo | Antibacterial, antioxidativo, protección- UV, anticáncer | Liu et al., 2005; Stankovic et al, 2012 |
| <i>Janthinobacterium lividum,</i> | Violaceina | Morado | Antibacterial, antiviral, | Venegas et al., 2019 |
| <i>Pseudoalteromonas tunicate,</i> | | | antileucémico, antifúngico, antiparasítico, | |

| Bacteria | Pigmento | Color | Bioactividad | Referencias |
|-----------------------------------------------------|---------------|----------|-------------------------------------------------|----------------------|
| <i>Chromobacterium violaceum</i> | | | antiprotozoal, antioxidante y antiulcerogénico. | |
| <i>Xanthomonas oryzae</i> | Xantomonadina | Amarillo | Quimiotaxonómico y marcador de diagnóstico | Schoner et al., 2014 |
| <i>Flavobacterium</i> sp., <i>Paracoccus</i> sp. | Zeaxantina | Amarillo | Fotoprotector, antioxidante | Berry et al., 2003 |

Fuente: Venil, *et al* (2020).

La industria textil produce y usa alrededor de 1.3 millones de toneladas de tintes, pigmentos y precursores de pigmentos valorados en alrededor de \$23 mil millones, en donde la mayoría se producen sintéticamente. Desde el siglo XIX se iniciaron a usar los tintes sintéticos, erradicando el uso de los naturales, ya que satisfacen la demanda de los consumidores por requerir procesos simples, reproducibles, de calidad y de precio razonable. La mayoría de los colorantes se hacen a partir de aceites fósiles y la producción de estos es económicamente eficiente con técnicas avanzadas de color que cubren todo el espectro. Sin embargo, existen retos a los que acudir, dentro de los cuales se puede mencionar la dependencia a recursos no renovables, su alta toxicidad ambiental y peligros a la salud humana. Es más, se descargan alrededor de 40,000 a 50,000 toneladas de pigmentos en el sistema de agua por parte de la industria textil global (Venil, *et al*, 2013).

Los biopigmentos por fermentación pueden servir como cromóforos mayores para modificaciones químicas posteriores que pueden llevar a un mayor espectro de colores del que ya brindan los microorganismos productores. Se ha demostrado que la mayoría de pigmentos de esta índole funcionan en lana, nylon, acrílicos, seda, poliéster y algodón. También ha sido probado que estos tintes resisten varias condiciones vitales de un pigmento como transpiración, lavado y fricción o *rubbing*. Dentro de algunos ejemplos específicos se puede mencionar que la prodigiosina de *Vibrio* y *Serratia* ha sido usada para teñir nylon, acrílico, seda, poliéster y lana. Además, las antraquinonas funcionan para teñir lana y la violaceina y deoxiviolaceina para teñir seda, algodón, lana, nylon y vinil (Venil, *et al*, 2013; Venil, *et al*, 2020).

J. Tinción de textiles

La fijación del color se puede definir como la propiedad de un pigmento, tinte o materiales conteniendo el material colorante de retener su matiz original, sin borrarse, correrse o cambiar cuando se moja, lava, limpia o se guarda en condiciones normales cuando se expone a luz, calor y otros factores. La tinción de las telas con estos pigmentos se puede llevar a cabo mediante el *dipping* o sumersión de la tela en el extracto del pigmento o se puede hervir la misma en el medio con las células bacterianas. La variación del color depende del tiempo de sumersión y de la temperatura del baño de tinte. Los pigmentos también se pueden ajustar usando solventes para cambiar los colores. Es importante mencionar que hay que llevar a cabo un pretratamiento en el textil antes de teñirlo para remover impurezas como grasas, ceras, pectinas, minerales, metales pesados o proteínas dentro de las fibras de este. Además, hay que fijar el pigmento: dentro de los fijadores más comunes se encuentran el alumbre, sulfato de hierro, sulfato de cobre y carbonato de sodio. El pretratamiento incrementa el hinchado de las fibras del textil a teñir, lo que permite soltar impurezas, resultando en mayor espacio para unirse el pigmento en la fibra (Ahmad, *et al*, 2011; Venil, *et al*, 2013).

La mayoría de telas se tiñen usando la técnica de ebullición con alumbre como mordante o fijador. Los diferentes colores de tono obtenidos se deben a los diferentes ritmos de adsorción entre tintes-tintes y fibras-fibras. En el proceso del tinte del textil, la naturaleza química del material del textil es importante porque determinan el mecanismo exacto en el que el tinte es adsorbido a grupos reactivos particulares en las telas. Cuando las moléculas de tinte entran a la fibra, las moléculas se transportan gradualmente de la fase acuosa en la que se encuentran a la fibra de interés (Ahmad, *et al*, 2011).

Por ejemplo, el rayón y el algodón presentan diferentes respuestas al proceso de tinción a pesar de que los dos estén hechos de materiales provenientes de celulosa. Esto se da, en ocasiones, porque al momento de fabricar el rayón viscoso, la disolución de la celulosa corresponde a un hinchado intensivo y lleva a una superficie micelar muchísimo mayor que en la celulosa original. Al mismo tiempo, ocurre degradación oxidativa, llevando a un número alto de grupos carboxilo en el mismo. Este grupo va a formar una carga negativa en el agua, y entonces de esta manera los pigmentos se unen formando un enlace de hidrógeno con el grupo COO^- en la fibra con grupos OH o NHR en el pigmento, resultando en una buena coloración. Se sabe que un átomo de hidrógeno puede actuar como un aceptor de electrones cuando se está uniendo a un oxígeno o a nitrógeno. Con mayor presencia de grupos donantes y aceptores de electrones entre la fibra y el pigmento, más pigmento se va a unir a la fibra, incrementando la habilidad para teñir (Ahmad, *et al*, 2011).

Los tintes se corren o no funcionan bien cuando tienen baja afinidad por el material al que se une o una mayor afinidad a un solvente no acuoso. Los detergentes hacen que estos se laven porque ayudan a estabilizar las regiones hidrofóbicas de las moléculas de tinte por su habilidad de formar micelas. Cuando se destiñe, ocurren alteraciones químicas en las moléculas de tinte inestables a una forma menos fuerte. Esto se puede dar por el sol o por oxidación en la atmósfera. La radiación UV tiene energía suficiente para romper o reformar enlaces inestables, por lo que el agua u oxígeno reacciona con esto causando que se cambie la estructura química cambiando también el color. Se pueden probar condiciones de lavado, de exposición a luz, a fricción y a agua para verificar la efectividad de un tinte o pigmento en la tela a la que esta siendo aplicada (Ahmad *et al.*, 2011).

K. Espacios de color RGB y CIE L*A*B

El procesamiento digital de imágenes se refiere a realizar operaciones sobre un conjunto de datos obtenidos de las imágenes con el fin de mejorar la misma o para extraer algún tipo de información útil de ella. Esto se utiliza en un amplio rango de industrias, como la medicina, la arqueología, entre otras. Un modelo o espacio de color indica la manera en que un color está definido y es una herramienta importante, ya que permite analizar y aprovechar toda la información presente dentro de la imagen. Los espacios de color más utilizados para el procesamiento de imágenes son RGB, HSI, YIQ, CMY, CMYK, CIE L*A*B (Alonso, 2009).

En el caso del RGB, los valores de R G y B son números enteros que van de 0 a 255, por lo que se permite generar 16,777,216 colores. Una imagen de color RGB es un arreglo de tres imágenes monocromáticas independientes correspondientes a la escala de rojos, verdes y azules. El método de reproducción del color utilizando en los monitores de color se basa en la primera ley de Grassmann, en donde se parte del negro y se va añadiendo mayor o menor cantidad de luz de los tres colores. Estos tres colores son los que forman el espacio de color RGB. Debido a la presencia de tres imágenes, el histograma de este espacio de color solo considera los valores de la intensidad del color, también llamada saturación de color (Alonso, 2009; Coronado, 2020).

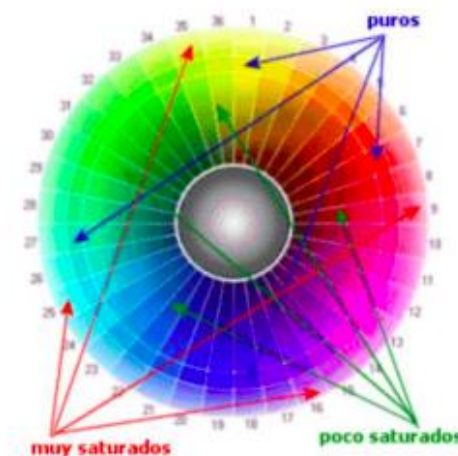
En el caso del CIE L*A*B, se puede visualizar como un espacio tridimensional, en donde cada color se puede ubicar individualmente. La localización de cada color se puede ubicar con sus coordenadas: L* correspondiente a luminosidad que va de 0 a 100, A* correspondiente a la coordenada rojo/verde y B* correspondiente a la coordenada amarillo/azul. Estas coordenadas son adimensionales y estos tres ejes corresponden al espacio tridimensional. Es importante notar que

para este espacio, las condiciones del ambiente en el que se toman los datos influyen ampliamente el resultado. Estos son llamados efectos paramétricos e incluyen factores como iluminación, iluminancia, tamaño de muestra, modo de visualización, entre otras (Hui, *et al*, 2004).

Cuando se menciona a la saturación, esta se refiere a la cantidad de luz blanca mezclada con el color dominante. La misma indica la pureza de un color particular, y puede relacionarse con el ancho de banda de la luz que estamos visualizando. Los colores puros del espectro están completamente saturados, por lo que cada uno de los colores primarios tiene su mayor valor de saturación máximo antes de ser mezclados con otros. Esta también puede ser definida por la cantidad de gris que contiene un color, mientras más gris o neutro es, menos brillante o saturado es (Alonso, 2009; Coronado, 2020).

Se puede describir la saturación como la desviación estándar entre las coordenadas de los colores rojo, verde y azul, si se elige la luminosidad como un valor de referencia. Se puede obtener un valor de saturación al hacer esta determinación ya que un color tiene saturación máxima si tiene una luminosidad de 100% en alguno de los canales y 0% en los otros dos. Este valor no estaría saturado en lo absoluto si todos los canales fueran iguales. Así, se puede decir que la saturación es la diferencia entre los valores de los canales. El color blanco representa valores de 255, 255, 255 y el color negro de 0, 0, 0 (Alonso, 2009; Coronado, 2020). A continuación, se puede observar una figura en donde se pueden ubicar y diferenciar los colores puros, los muy saturados y los poco saturados:

Figura 2: Colores puros, muy saturados y poco saturados con respecto a un punto blanco de referencia.



Fuente: Coronado (2020).

VI. METODOLOGÍA

Ver datos de reactivos y especificaciones de los equipos utilizados en Anexos del Cuadro 97 al Cuadro 123.

A. Aislamiento de cepas microbianas del suelo

Material y equipo

- 1 Balanza
- 1 Espátula analítica
- Agua destilada
- 1 Probeta de 100 mL
- Agar tripticasa soya
- 1 Erlenmeyer de 250 mL
- 1 Estufa
- 1 Agitador magnético
- 1 Autoclave
- Cinta testigo
- Papel aluminio
- Parafilm
- 1 Campana de extracción
- Cloro al 10%
- Cloro al 2%
- Etanol al 70%
- 1 Mechero
- 1 Asa microbiológica
- 8 cajas Petri
- 1 Incubadora
- Raíces de un cultivo de caña de azúcar
- Jabón

- Toallas de papel
- Guates térmicos
- Guantes de nitrilo
- Encendedor o fósforos
- Tijera

Procedimiento

1. Pesar la cantidad de agar tripticasa soya necesaria de acuerdo a las especificaciones del fabricante del reactivo para preparar 100 mL de agar tripticasa soya (Ver Cálculo 1), tomando una espátula analítica y el agar y colocandolo en un trozo de papel encerado tarado sobre la balanza analítica de poco en poco hasta obtener el peso calculado.
2. Vertir 100 mL de agua destilada en una probeta de 100 mL.
3. Verter 100 mL de agua destilada previamente medidos y 4 g de agar tripticasa soya previamente pesados en un Erlenmeyer de 250 mL.
4. Colocar un agitador magnético dentro del Erlenmeyer de 250 mL y colocar el mismo sobre una estufa a una temperatura de alrededor de 60 °C.
5. Encender agitación sin ocasionar derrames.
6. Esperar hasta que se disuelva el agar en su totalidad.
7. Una vez disueltos en su totalidad, retirar el Erlenmeyer de la estufa.
8. Colocar sobre la bandeja de un autoclave el Erlenmeyer cubierto con papel aluminio y un trozo de cinta testigo.
9. Agregar agua al autoclave hasta el nivel máximo señalado en el mismo y cerrar la puerta del mismo.
10. Encender autoclave y permitir que alcance una temperatura de 121° C.
11. Esperar durante 40 minutos, apagar el autoclave y dejar salir el vapor para aliviar la presión.
12. Una vez liberado el vapor, abrir la puerta, drenar el agua, esperar 15 minutos para evitar quemaduras y tomar el Erlenmeyer utilizando guantes térmicos.
13. Encender la campana de extracción y limpiar la superficie utilizando cloro al 10% y luego etanol al 70% con papel absorbente. Esperar 5 minutos entre limpieza con cloro y etanol.
14. Encender un mechero utilizando un encendedor o fósforos y trabajar alrededor de él durante todo el procedimiento.

15. Colocarse un par de guantes de nitrilo, tomar 8 cajas Petri y vertir alrededor de 12 mL de agar tripticasa soya ya esterilizado sobre cada una.
16. Cortar trozos de parafilm utilizando una tijera lo suficientemente grandes para rodear una caja Petri.
17. Dejar solidificar a temperatura ambiente alrededor del mechero, tapar las cajas y sellar con parafilm una vez sólidas.
18. Tomar raíces de un cultivo de caña de azúcar utilizando las manos y lavarlas con jabón y agua hasta eliminar cualquier residuo visible de tierra.
19. Sumergir las mismas en cloro al 2% por 5 minutos.
20. Sacar el material vegetal del cloro y secar el exceso del mismo en toallas de papel.
21. Sumergir el material vegetal en etanol al 70%, enjuagar con agua estéril y secar con toallas de papel.
22. Cortar secciones cortas de las raíces e inocular 5 fragmentos en una placa Petri por duplicado en las placas de agar tripticasa soya previamente preparadas.
23. Incubar a temperatura ambiente por 15 días.
24. Posterior a los 15 días de incubación, desinfectar el área de trabajo con cloro al 10% y etanol al 70% con papel absorbente. Esperar 5 minutos entre limpieza con cloro y etanol.
25. Encender un mechero utilizando un encendedor o fósforos y trabajar alrededor de él durante todo el procedimiento.
26. Identificar y seleccionar las diferentes colonias pigmentadas que crecieron en las cajas incubadas.
27. Tomar un asa y colocar la punta de la misma sobre la llama del mechero permitiendo que la misma se torne roja y esperar a que la misma se enfrie para poder esterilizarla.
28. Tomar una asada o una porción de cada colonia pigmentada con el asa previamente esterilizada e inocular cada una mediante un estriado sobre una placa con agar tripticasa soya previamente preparada.
29. Tapar las cajas y sellar con parafilm.
30. Incubar por 15 días a temperatura ambiente.
31. Identificar cada colonia macroscópicamente tomando en consideración color y morfología.
32. Seleccionar las 3 colonias con mayor pigmentación y rotularlas como A, N y R.

B. Preparación de inóculos

Material y equipo

- 1 Balanza
- 1 Espátula
- Agua destilada
- 1 Probeta de 50 mL
- Caldo nutritivo
- 1 Erlenmeyer de 250 mL
- 1 Estufa
- 1 Agitador magnético
- 1 Autoclave
- Cinta testigo
- Papel aluminio
- Parafilm
- 1 Campana de extracción
- Cloro al 10%
- Etanol al 70%
- 1 Mechero
- 1 Asa microbiológica
- 1 Placa Petri con cultivo microbiano
- 1 Incubadora
- Tijeras
- Guantes térmicos
- Guantes de nitrilo
- Encendedor o fósforos

Procedimiento

1. Pesar la cantidad de caldo nutritivo necesaria de acuerdo a las especificaciones del fabricante del reactivo para preparar 50 mL de caldo nutritivo (Ver Cálculo 2), tomando una espátula analítica y el caldo y colocandolo en un trozo de papel encerado tarado sobre la balanza analítica de poco en poco hasta obtener el peso calculado.
2. Vertir 50 mL de agua destilada en una probeta de 50 mL.
3. Vertir 50 mL de agua destilada previamente medidos y 0.4 g de caldo nutritivo previamente pesados en un Erlenmeyer de 250 mL.

4. Colocar un agitador magnético dentro del Erlenmeyer de 250 mL y colocar el mismo sobre una estufa a una temperatura de alrededor de 60 °C.
5. Encender agitación sin ocasionar derrames.
6. Esperar hasta que se disuelva el agar en su totalidad.
7. Una vez disueltos en su totalidad, retirar el Erlenmeyer de la estufa.
8. Colocar sobre la bandeja de un autoclave el Erlenmeyer cubierto con papel aluminio y un trozo de cinta testigo.
9. Agregar agua al autoclave hasta el nivel máximo señalado en el mismo y cerrar la puerta del mismo.
10. Encender autoclave y permitir que alcance una temperatura de 121° C.
11. Esperar durante 40 minutos, apagar el autoclave y dejar salir el vapor para aliviar la presión.
12. Una vez liberado el vapor, abrir la puerta, drenar el agua, esperar 15 minutos para evitar quemaduras y tomar el Erlenmeyer utilizando guantes térmicos.
13. Encender la campana de extracción y limpiar la superficie utilizando cloro al 10% y luego etanol al 70% con papel absorbente. Esperar 5 minutos entre limpieza con cloro y etanol.
14. Encender un mechero utilizando un encendedor o fósforos y trabajar alrededor de él durante todo el procedimiento.
15. Tomar un asa y colocar la punta de la misma sobre la llama del mechero permitiendo que la misma se torne roja y esperar a que la misma se enfrie para poder esterilizarla.
16. Cortar trozos de parafilm y papel aluminio utilizando una tijera lo suficientemente grandes para rodear el cuello y la parte superior del Erlenmeyer de 250 mL, respectivamente.
17. Colocarse guantes de nitrilo y tomar una asada o una porción de una colonia microbiana sobre una placa con agar nutritivo e inocular en el Erlenmeyer con 50 mL de caldo nutritivo previamente esterilizado.
18. Sellar el Erlenmeyer con el papel aluminio y parafilm previamente cortado.
19. Incubar el Erlenmeyer por 24 horas a 37° C y 150 rpm.
20. Realizar este procedimiento para las 3 cepas microbianas seleccionadas (A, R y N).

C. Formulación de medio de cultivo variando la concentración de fuente de carbono

Material y equipo

- 1 Balanza analítica
- 1 Espátula
- Agua destilada
- 1 Probeta de 1000 mL
- 3 Erlenmeyer de 2000 mL
- 3 Estufas
- 3 Agitadores magnéticos
- 27 Erlenmeyers de 250 mL
- 1 Probeta de 250 mL
- 1 Autoclave
- Cinta testigo
- Papel aluminio
- Parafilm
- 3 Tubos Falcon de 50 mL
- Sacarosa
- Extracto de levadura
- NaCl
- K_2HPO_4
- $(NH_4)_2SO_4$
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
- Guantes térmicos
- Tijeras

Procedimiento

1. Pesar las cantidades necesarias para preparar 1.5 L de cada una de las 3 formulaciones de medio de cultivo variando la concentración de fuente de carbono con los siguientes reactivos a las siguientes concentraciones, tomando una espátula analítica y los reactivos y colocandolo en un trozo de papel encerado tarado sobre la balanza analítica de poco en poco hasta obtener el peso calculado:

Cuadro 4: Concentraciones de los reactivos utilizados para preparar las 3 formulaciones de medio de cultivo variando la concentración de fuente de carbono.

| Reactivo | Formulación 1 | Formulación 2 | Formulación 3 |
|-------------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|
| Sacarosa | 10 g/L | 20 g/L | 30 g/L |
| Extracto de levadura | 2.5 g/L | 2.5 g/L | 2.5 g/L |
| K ₂ HPO ₄ | 1.25 g/L | 1.25 g/L | 1.25 g/L |
| (NH ₄) ₂ SO ₄ | 0.5 g/L | 0.5 g/L | 0.5 g/L |
| NaCl | 5.0 g/L | 5.0 g/L | 5.0 g/L |
| MgSO ₄ · 7H ₂ O | 1.0 g/L | 1.0 g/L | 1.0 g/L |

Fuente: Elaboración propia.

2. Vertir 1.5 mL de agua destilada en tres Erlenmeyers de 2000 mL medidos con una probeta y agregar los reactivos pesados anteriormente por cada formulación.
3. Colocar un agitador magnético dentro de cada Erlenmeyer de 2000 mL y colocar cada uno sobre una estufa a una temperatura de alrededor de 60 °C.
4. Encender agitación sin ocasionar derrames.
5. Esperar hasta que se disuelvan todos los reactivos en su totalidad y retirar de la estufa.
6. Tomar 27 Erlenmeyers de 250 mL adicionales y vertir en 9 de ellos 150 mL del medio de cultivo preparado con concentración 10 g/L de sacarosa, en los siguientes 9 vertir 150 mL del medio de cultivo preparado con concentración 20 g/L de sacarosa y en los últimos 9 vertir 150 mL del medio de cultivo preparado con concentración 30 g/L de sacarosa utilizando una probeta de 250 mL.
7. Cortar trozos de parafilm y papel aluminio utilizando una tijera lo suficientemente grandes para rodear el cuello y la parte superior del Erlenmeyer de 250 mL, respectivamente.
8. Rotular cada Erlenmeyer por formulación, en donde hay un triplicado por formulación, y sellar con el papel aluminio y parafilm cortado.
9. Colocar el volumen de cada medio de cultivo restante (150 mL por formulación) en tres tubos Falcon a 4° C para su posterior uso como blanco.

10. Colocar los 27 Erlenmeyers y los tubos Falcon sobre la bandeja de un autoclave cubiertos con papel aluminio y un trozo de cinta testigo.
11. Agregar agua al autoclave hasta el nivel máximo señalado en el mismo y cerrar la puerta del mismo.
12. Encender autoclave y permitir que alcance una temperatura de 121° C.
13. Esperar durante 40 minutos, apagar el autoclave y dejar salir el vapor para aliviar la presión.
14. Una vez liberado el vapor, abrir la puerta, drenar el agua, esperar 15 minutos para evitar quemaduras y tomar los Erlenmeyers utilizando guantes térmicos.
15. Permitir que los mismos alcancen temperatura ambiente.
16. Almacenar los tres tubos Falcon esterilizados a 4° C.

D. Fermentación para producción de pigmentos microbianos

Material y equipo

- Papel aluminio
- Parafilm
- 1 Campana de extracción
- Cloro al 10%
- Etanol al 70%
- 1 Mechero
- 1 Pipeta graduada de 5 mL
- 1 Bulbo
- 27 Erlenmeyes con diferentes medios de cultivo formulados
- Inóculos previamente preparados de las 3 cepas seleccionadas
- Tijeras
- Encendedor o fósforos

Procedimiento

1. Encender la campana de extracción y limpiar la superficie utilizando cloro al 10% y luego etanol al 70% con papel absorbente. Esperar 5 minutos entre limpieza con cloro y etanol.
2. Encender un mechero utilizando un encendedor o fósforos y trabajar alrededor de él durante todo el procedimiento.

3. Remover el papel aluminio de 9 Erlenmeyers, 3 por formulación de medio de cultivo preparado (triplicado), e inocular 1.5 mL (1% v/v) con el inóculo preparado anteriormente utilizando una pipeta graduada.
4. Cortar trozos de parafilm y papel aluminio utilizando una tijera lo suficientemente grandes para rodear el cuello y la parte superior del Erlenmeyer de 250 mL, respectivamente.
5. Cubrir los mismos con papel aluminio y parafilm.
6. Incubar los Erlenmeyers por 1 semana a 37° C y 150 rpm.
7. Repetir el procedimiento para las otras dos cepas microbianas seleccionadas.

E. Determinación de crecimiento microbiano durante la fermentación

Material y equipo

- 1 Espectrofotómetro UV/VIS
- 9 Fermentaciones microbianas
- 3 Formulaciones de medio de cultivo sin inocular
- 1 Celda espectrofotométrica
- 1 Piseta de agua destilada
- Kimwipes
- Software Prism 9

Procedimiento

1. Encender el espectrofotómetro UV/VIS y configurarlo para medir absorbancia a 600 nm.
2. Tomar un Erlenmeyer de cada formulación con cada una de las tres cepas utilizadas (9 Erlenmeyers en total) y medir absorbancia de las mismas utilizando el medio de cultivo almacenado sin inocular como blanco.
3. Entre cada medición de absorbancia limpiar la celda espectrofotométrica utilizada con una piseta de agua destilada y Kimwipes.
4. Llevar a cabo mediciones periódicas de la absorbancia a lo largo de la semana de fermentación, midiendo con mayor regularidad al inicio de las fermentaciones.
5. Obtener alrededor de 16 mediciones de densidad óptica por cada fermentación.
6. Construir una curva de densidad óptica a 600 nm vrs. tiempo por cada fermentación utilizando el software Prism 9.

7. Sobreponer las curvas de la misma cepa para observar el efecto de la concentración de sacarosa sobre el crecimiento microbiano y, posteriormente, sobre la producción de pigmentos utilizando el software Prism 9.

F. Extracción de los pigmentos producidos

Material y equipo

- 27 Fermentaciones microbianas
- 1 Centrífuga de 1 L
- 4 recipientes de la centrífuga
- 1 Balanza
- 1 Balanza analítica
- 27 Beakers de 50 mL
- Horno
- 27 Tubos Falcon de 50 mL
- 1 Ampolla de decantación
- Cloroformo
- Éter
- Acetona
- Metanol
- Vortex
- Software Microsoft Excel

Procedimiento

1. Tomar cada fermentación de la incubadora y colocarlas en los recipientes de la centrífuga.
2. Encender la balanza y pesar cada recipiente asegurándose que tengan el mismo peso para balancear la centrífuga.
3. Centrifugar cada fermentación a 5000 rpm por 15 minutos.
4. Recuperar el sobrenadante y centrifugar el mismo una vez más a 5000 rpm por 15 minutos.
5. Lavar el pellet obtenido de cada una utilizando un vortex, vertirlo en un beaker y colocar el mismo en un horno a 60 °C hasta que se encuentre seco en su totalidad.

6. Tomar el sobrenadante e introducirlo en una ampolla de decantación junto con un volúmen equivalente de cloroformo.
7. Al llenar la ampolla, colocar un pedazo de hule entre el soporte y la ampolla debido a que es fácil de quebrar.
8. Cerrar la llave de la ampolla para que, al llenarlo, no salgan las soluciones.
9. Agitar con precaución para evitar crear una emulsión y detener el tapón de la ampolla para evitar que salga disparado debido a la presión.
10. Colocar las fases formadas en recipientes diferentes y repetir dos veces más con el mismo solvente.
11. Tomar la fase con el pigmento visible y repetir la extracción con éter, acetona y metanol.
12. Almacenar el sobrenadante a 4° C rotulando de qué formulación y cepa proviene en un tubo Falcon estéril.
13. Encender la balanza y pesar el pellet seco obtenido para determinar el peso seco de la masa celular producida durante cada una de las fermentaciones.
14. Obtener un promedio con su desviación estándar de mg de masa celular por mL de fermentación del triplicado por cada cepa utilizando el software Microsoft Excel (Ver Cuadros de 81 a 89).

G. Evaluación de rendimiento de la producción de pigmento

Material y equipo

- 1 Balanza analítica
- 1 Pipeta graduada de 10 mL
- 1 Bulbo
- Horno
- 27 Tubos de ensayo de 20 mL

Procedimiento

1. Tomar 10 mL del sobrenadante obtenido de cada fermentación con una pipeta graduada, colocar el mismo en un tubo de ensayo y secar en un horno a 60 °C hasta que se evapore el agua en su totalidad y se observe el pigmento.
2. Pesar el pigmento evaporado y obtener la relación de mg de pigmento producido por mL de sobrenadante obtenido por cada fermentación realizada (Ver Cuadros de 54 a 62).

3. Obtener un promedio con su desviación estándar de mg de pigmento producido por mL de sobrenadante obtenido del triplicado por cada cepa realizado por cada fermentación Ver Cuadros de 63 a 71).
4. Seleccionar la concentración de fuente de carbono que presentó la mayor producción de pigmento para continuar con las siguientes formulaciones.

H. Formulación de medio de cultivo variando la concentración de fuente de nitrógeno

Material y equipo

- 1 Balanza analítica
- 1 Espátula
- Agua destilada
- 1 Probeta de 1000 mL
- 3 Erlenmeyer de 2000 mL
- 3 Estufas
- 3 Agitadores magnéticos
- 27 Erlenmeyers de 250 mL
- 1 Probeta de 250 mL
- 1 Autoclave
- Cinta testigo
- Papel aluminio
- Parafilm
- 3 Tubos Falcon de 50 mL
- Sacarosa
- Extracto de levadura
- NaCl
- K_2HPO_4
- $(NH_4)_2SO_4$
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
- Guantes térmicos
- Tijeras

Procedimiento

1. Pesar las cantidades necesarias para preparar 1.5 L de cada una de las 3 formulaciones de medio de cultivo variando la concentración de fuente de nitrógeno con los siguientes reactivos a las siguientes concentraciones, tomando una espátula analítica y los reactivos y colocandolo en un trozo de papel encerado tarado sobre la balanza analítica de poco en poco hasta obtener el peso calculado:

Cuadro 5: Concentraciones de los reactivos utilizados para preparar las 3 formulaciones de medio de cultivo variando la concentración de fuente de nitrógeno.

| Reactivo | Formulación 4 | Formulación 5 | Formulación 6 |
|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------------|
| Sacarosa | Concentración que presentó el mayor rendimiento para cada cepa (10 g/L, 20 g/L o 30 g/L) | | |
| Extracto de levadura | 1.0 g/L | 2.0 g/L | 3.0 g/L |
| K_2HPO_4 | 1.25 g/L | 1.25 g/L | 1.25 g/L |
| $(NH_4)_2SO_4$ | 0.5 g/L | 0.5 g/L | 0.5 g/L |
| NaCl | 5.0 g/L | 5.0 g/L | 5.0 g/L |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 1.0 g/L | 1.0 g/L | 1.0 g/L |

Fuente: Elaboración propia.

2. Vertir 1.5 mL de agua destilada en tres Erlenmeyers de 2000 mL medidos con una probeta y agregar los reactivos pesados anteriormente por cada formulación.
3. Colocar un agitador magnético dentro de cada Erlenmeyer de 2000 mL y colocar cada uno sobre una estufa a una temperatura de alrededor de 60 °C.
4. Encender agitación sin ocasionar derrames.
5. Esperar hasta que se disuelvan todos los reactivos en su totalidad y retirar de la estufa.
6. Tomar 27 Erlenmeyers de 250 mL adicionales y vertir en 9 de ellos 150 mL del medio de cultivo preparado con concentración 1 g/L de extracto de levadura, en los siguientes 9 vertir 150 mL del medio de cultivo preparado con concentración 2 g/L de extracto de levadura, y en los últimos 9 vertir 150 mL del medio de cultivo preparado con concentración 3 g/L de extracto de levadura.
7. Cortar trozos de parafilm y papel aluminio utilizando una tijera lo suficientemente grandes para rodear el cuello y la parte superior del Erlenmeyer de 250 mL, respectivamente.

8. Rotular cada Erlenmeyer por formulación, en donde hay un triplicado por formulación, y sellar con el papel aluminio y parafilm cortado.
9. Colocar el volumen de cada medio de cultivo restante (150 mL por formulación) en tres tubos Falcon a 4° C para su posterior uso como blanco.
10. Colocar los 27 Erlenmeyers y los tubos Falcon sobre la bandeja de un autoclave cubiertos con papel aluminio y un trozo de cinta testigo.
11. Agregar agua al autoclave hasta el nivel máximo señalado en el mismo y cerrar la puerta del mismo.
12. Encender autoclave y permitir que alcance una temperatura de 121° C.
13. Esperar durante 40 minutos, apagar el autoclave y dejar salir el vapor para aliviar la presión.
14. Una vez liberado el vapor, abrir la puerta, drenar el agua, esperar 15 minutos para evitar quemaduras y tomar los Erlenmeyers utilizando guantes térmicos.
15. Permitir que los mismos alcancen temperatura ambiente.
16. Almacenar los tres tubos Falcon esterilizados a 4° C.
17. Repetir la metodología desde la sección D. Fermentación para producción de pigmentos microbianos hasta la sección G. Evaluación de rendimiento de la producción de pigmento de esta metodología, pero seleccionado la concentración de fuente de nitrógeno que presentó la mayor producción de pigmento para continuar con las siguientes formulaciones.

I. Formulación de medio de cultivo variando la concentración de fuente de fósforo

Material y equipo

- 1 Balanza analítica
- 1 Espátula
- Agua destilada
- 1 Probeta de 1000 mL
- 3 Erlenmeyer de 2000 mL
- 3 Estufas
- 3 Agitadores magnéticos
- 27 Erlenmeyers de 250 mL
- 1 Probeta de 250 mL
- 1 Autoclave

- Cinta testigo
- Papel aluminio
- Parafilm
- 3 Tubos Falcon de 50 mL
- Sacarosa
- Extracto de levadura
- NaCl
- K_2HPO_4
- $(NH_4)_2SO_4$
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
- Guantes térmicos
- Tijeras

Procedimiento

1. Pesar las cantidades necesarias para preparar 1.5 L de cada una de las 3 formulaciones de medio de cultivo variando la concentración de fuente de fósforo con los siguientes reactivos a las siguientes concentraciones, tomando una espátula analítica y los reactivos y colocandolo en un trozo de papel encerado tarado sobre la balanza analítica de poco en poco hasta obtener el peso calculado:

Cuadro 6: Concentraciones de los reactivos utilizados para preparar las 3 formulaciones de medio de cultivo variando la concentración de fuente de fósforo.

| Reactivo | Formulación 7 | Formulación 8 | Formulación 9 |
|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|---------------|
| Sacarosa | Concentración que presentó el mayor rendimiento para cada cepa (10 g/L, 20 g/L o 30 g/L) | | |
| Extracto de levadura | Concentración que presentó el mayor rendimiento para cada cepa (1 g/L, 2 g/L o 3 g/L) | | |
| K_2HPO_4 | 0.5 g/L | 1.0 g/L | 1.5 g/L |
| $(NH_4)_2SO_4$ | 0.5 g/L | 0.5 g/L | 0.5 g/L |
| NaCl | 5.0 g/L | 5.0 g/L | 5.0 g/L |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 1.0 g/L | 1.0 g/L | 1.0 g/L |

Fuente: Elaboración propia.

2. Vertir 1.5 mL de agua destilada en tres Erlenmeyers de 2000 mL medidos con una probeta y agregar los reactivos pesados anteriormente por cada formulación.
3. Colocar un agitador magnético dentro de cada Erlenmeyer de 2000 mL y colocar cada uno sobre una estufa a una temperatura de alrededor de 60 °C.
4. Encender agitación sin ocasionar derrames.
5. Esperar hasta que se disuelvan todos los reactivos en su totalidad y retirar de la estufa.
6. Tomar 27 Erlenmeyers de 250 mL adicionales y vertir en 9 de ellos 150 mL del medio de cultivo preparado con concentración 0.5 g/L de K_2HPO_4 , en los siguientes 9 vertir 150 mL del medio de cultivo preparado con concentración 1.0 g/L de K_2HPO_4 , y en los últimos 9 vertir 150 mL del medio de cultivo preparado con concentración 1.5 g/L de K_2HPO_4 .
7. Cortar trozos de parafilm y papel aluminio utilizando una tijera lo suficientemente grandes para rodear el cuello y la parte superior del Erlenmeyer de 250 mL, respectivamente.
8. Rotular cada Erlenmeyer por formulación, en donde hay un triplicado por formulación, y sellar con el papel aluminio y parafilm cortado.
9. Colocar el volumen de cada medio de cultivo restante (150 mL por formulación) en tres tubos Falcon a 4° C para su posterior uso como blanco.
10. Colocar los 27 Erlenmeyers y los tubos Falcon sobre la bandeja de un autoclave cubiertos con papel aluminio y un trozo de cinta testigo.
11. Agregar agua al autoclave hasta el nivel máximo señalado en el mismo y cerrar la puerta del mismo.
12. Encender autoclave y permitir que alcance una temperatura de 121° C.
13. Esperar durante 40 minutos, apagar el autoclave y dejar salir el vapor para aliviar la presión.
14. Una vez liberado el vapor, abrir la puerta, drenar el agua, esperar 15 minutos para evitar quemaduras y tomar los Erlenmeyers utilizando guantes térmicos.
15. Permitir que los mismos alcancen temperatura ambiente.
16. Almacenar los tres tubos Falcon esterilizados a 4° C.
17. Repetir la metodología desde la sección D. Fermentación para producción de pigmentos microbianos hasta la sección G. Evaluación de rendimiento de la producción de pigmento de esta metodología.

J. Determinación de máxima absorción del pigmento producido

Material y equipo

- 1 Espectrofotómetro UV/VIS
- Pigmentos microbianos producidos
- 1 Celda espectrofotométrica
- 1 Piseta de agua destilada
- Kimwipes

Procedimiento

1. Encender el espectrofotómetro UV/VIS y configurarlo para medir absorbancia.
2. Determinar el máximo de absorción con espectrofotometría UV/VIS utilizando como blanco agua destilada y analizando cada pigmento en un rango de longitud de onda de entre 200 nm y 1000 nm.
3. Entre cada medición de absorbancia limpiar la celda espectrofotométrica utilizada con una piseta de agua destilada y Kimwipes.
4. Obtener una gráfica de longitud de onda vs. absorbancia para cada pigmento analizado.

K. Comparación de funcionamiento de pigmentos microbianos y comerciales

Material y equipo

- Pigmentos microbianos producidos
- Añelina naranja
- Añelina amarilla
- Añelina café
- Añelina verde
- Agua
- 4 Beakers de 100 mL
- 31 Beakers de 250 mL
- Manta cruda
- 1 Estufa
- 1 Balanza
- 1 Regla

Procedimiento

1. Lavar el textil seleccionado con agua fría durante 5 minutos y dejar secar a temperatura ambiente.
2. Cortar cuadros de 9 cm^2 de la tela limpia midiendo cada uno con una regla.
3. Sumergir un cuadrado del textil en cada uno de los pigmentos microbianos producidos en donde se obtenga una razón de 40 mL de pigmento microbiano por cada 1 g de tela a teñir con una concentración de 1 mg/mL.
4. Sumergir el textil en una solución de añelina con una concentración de 1 mg/mL en donde se obtenga una razón de 40 mL por cada 1 g de tela a teñir.
5. Ebulir cada solución de pigmento con la tela por alrededor de 120 minutos a una temperatura de entre 80°C y 90°C por separado en beakers de 250 mL.
6. Retirar las telas de la solución conteniendo el pigmento y dejar secar las telas a temperatura ambiente hasta que las mismas ya no se encuentren húmedas.

L. Medición de la saturación del color

Material y equipo

- Textiles teñidos con pigmentos microbianos
- Textiles teñidos con pigmentos comerciales
- Textil sin teñir
- 1 Cámara Nikon Coolpix P510
- 1 Lámpara de luz blanca
- 1 Soporte fijo de cámara
- Software Microsoft Excel
- Software Adobe Photoshop
- Densitómetro X-rite Exact Basic

Procedimiento

1. Colocar el textil de color blanco para utilizarla como un fondo blanco.
2. Sobre el mismo, colocar el soporte y la cámara para evitar que se mueva durante las fotografías, ajustandola a 40 cm del objetivo a la superficie del material.
3. Por cada textil teñido, generar una serie de 6 fotos automáticas para evitar distorsionar las mismas en aumento 1x, es decir, sin aumento.
4. Cargar las imágenes tomadas por cada textil teñido al software Adobe Photoshop.

5. Recortar la zona central de la fotografía del textil teñido y analizar a través de los histogramas obteniendo los valores cuantificables en el espacio de color RGB del rojo, verde, azul y luminosidad.
6. Calcular porcentaje de saturación de todos los textiles teñidos y del textil sin teñir como base para las 6 fotografías de cada uno (Ver Cuadros de 90 a 93).
7. Obtener promedio y desviación estándar de cada porcentaje de saturación utilizando el software Microsoft Excel.
8. Para medir la saturación en el espacio de color CMYK, enviar a analizar cada muestra a un laboratorio externo en dónde se utilice el densitómetro X-rite Exact Basic.
9. Determinar qué pigmentos presentan mayor saturación del color en comparación con el pigmento comercial del color similar y del textil sin teñir.

*Metodologías base obtenidas de Ahmad, *et. al*, 2011; Masi, Duraipandi, *et. al*, 2014; Usman, *et. al*, 2018; Padhan, *et. al*, 2021; Navin y Radha, 2015; Issa, *et. al*, 2016; Alves, *et. al*, 2016; Coronado, 2020 y Banerjee, *et. al*, 2011.

VII. RESULTADOS

A. Microorganismo A

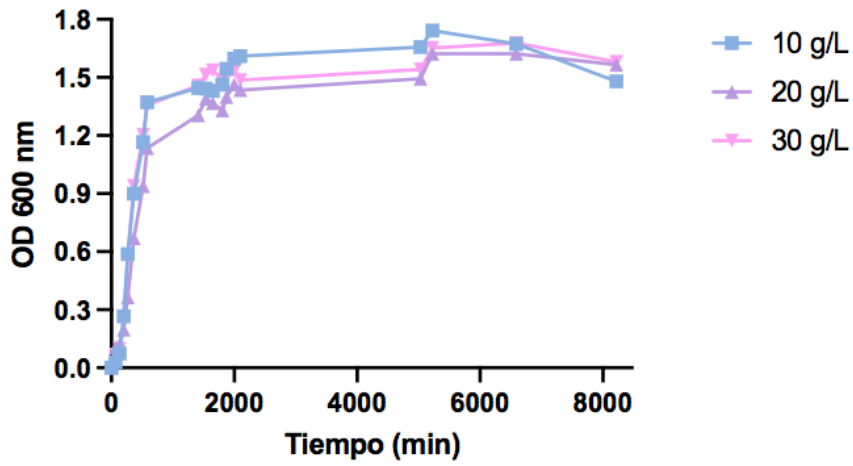
Cuadro 7: Nueve formulaciones de medio de cultivo desarrolladas para el crecimiento y producción de pigmentos del microorganismo A.

| Formulación desarrollada | Sacarosa ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g/L) | Extracto de levadura ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g/L) | K₂HPO₄ ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g/L) | (NH₄)₂SO₄ ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g/L) | NaCl ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g/L) | MgSO₄ · 7H₂O ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g/L) |
|---------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| 1 | 10 | 2.5 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 2 | 20 | 2.5 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 3 | 30 | 2.5 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 4 | 10 | 1 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 5 | 10 | 2 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 6 | 10 | 3 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 7 | 10 | 3 | 0.5 | 0.5 | 5 | 1 |
| 8 | 10 | 3 | 1 | 0.5 | 5 | 1 |
| 9 | 10 | 3 | 1.5 | 0.5 | 5 | 1 |

Fuente: Elaboración propia.

*En las formulaciones 1, 2 y 3 se varió la concentración de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) y se mantuvieron constantes las concentraciones del resto de reactivos. En las formulaciones 4, 5 y 6 se varió la concentración de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) y se mantuvieron constantes las concentraciones del resto de reactivos. En las formulaciones 7, 8 y 9 se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) y se mantuvieron constantes las concentraciones del resto de reactivos. Las fermentaciones fueron llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana se conservó la formulación con la que se obtuvo mayor producción de pigmento para cada uno de los casos siguiendo el orden: 1, 6 y 7.

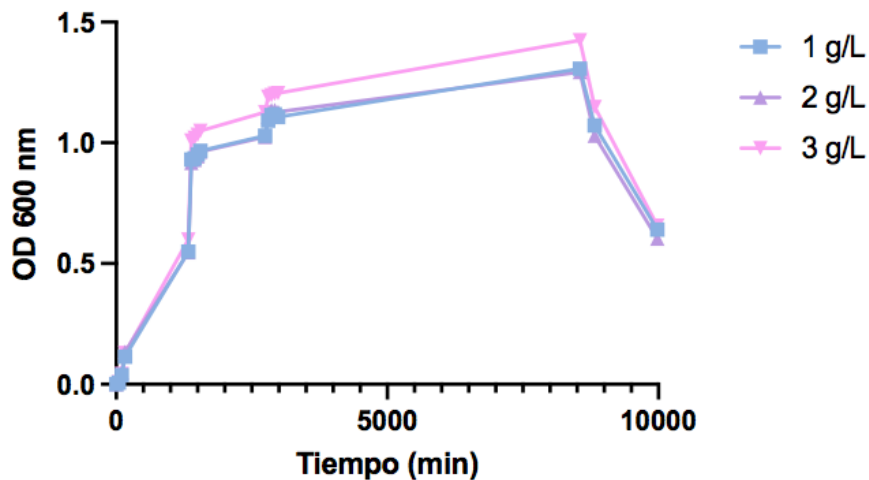
Figura 3: Crecimiento del microorganismo A en las formulaciones 1, 2 y 3, para las cuales se varió la concentración de sacarosa.



Fuente: Elaboración propia.

*OD 600 nm se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de sacarosa a la izquierda de la figura (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 48.

Figura 4: Crecimiento del microorganismo A en las formulaciones 4, 5 y 6, para las cuales se varió la concentración de extracto de levadura.

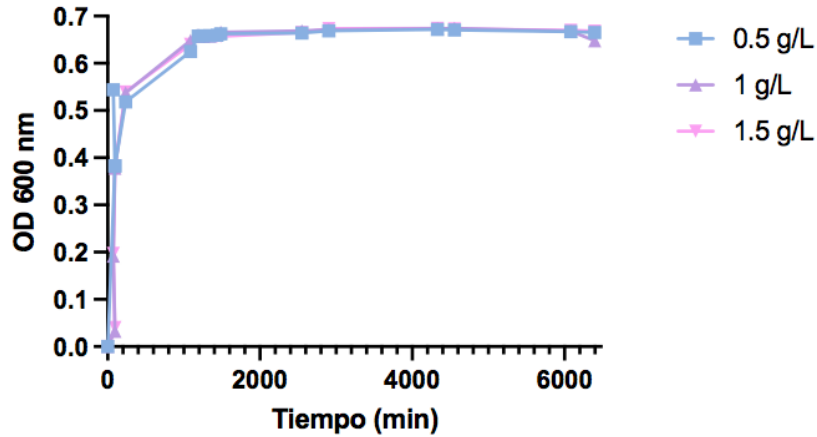


Fuente: Elaboración propia.

*OD 600 nm se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de extracto de levadura a la izquierda de la figura (1, 2 y 3 g/L) son las

iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 49.

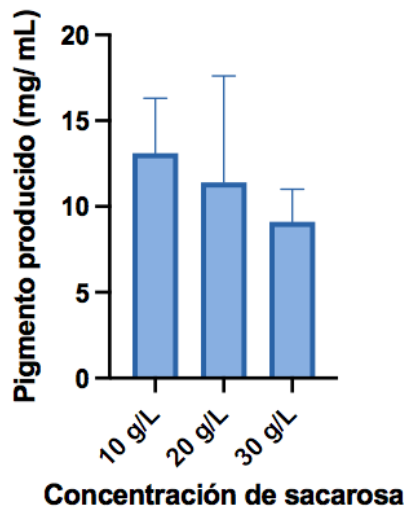
Figura 5: Crecimiento del microorganismo A en las formulaciones 7, 8 y 9, para las cuales se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásico.



Fuente: Elaboración propia.

*OD 600 nm se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio a la izquierda de la figura (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 50.

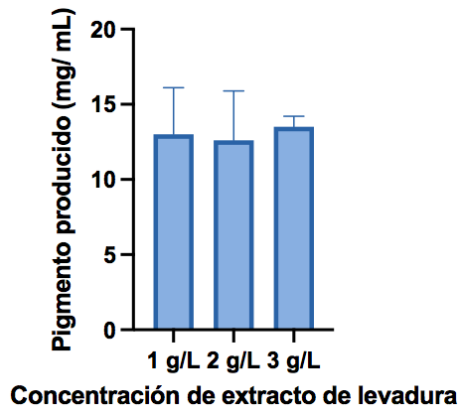
Figura 6: Pigmento producido (mg/mL) por microorganismo A en las formulaciones 1, 2 y 3, para las cuales se varió la concentración de sacarosa (g/L).



Fuente: Elaboración propia.

*Pigmento producido (mg/mL): mg de pigmento producido por mL de sobrenadante obtenido tras la extracción. Las concentraciones indicadas de sacarosa en el eje x de la figura (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de pigmento producido por cada triplicado utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 66.

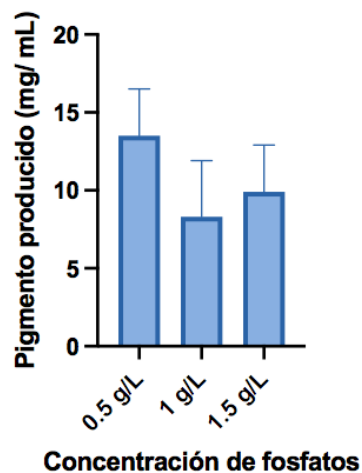
Figura 7: Pigmento producido (mg/mL) por microorganismo A en las formulaciones 4, 5 y 6, para las cuales se varió la concentración de extracto de levadura (g/L).



Fuente: Elaboración propia.

*Pigmento producido (mg/mL): mg de pigmento producido por mL de sobrenadante obtenido tras la extracción. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura en el eje x de la figura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de pigmento producido por cada triplicado utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 67.

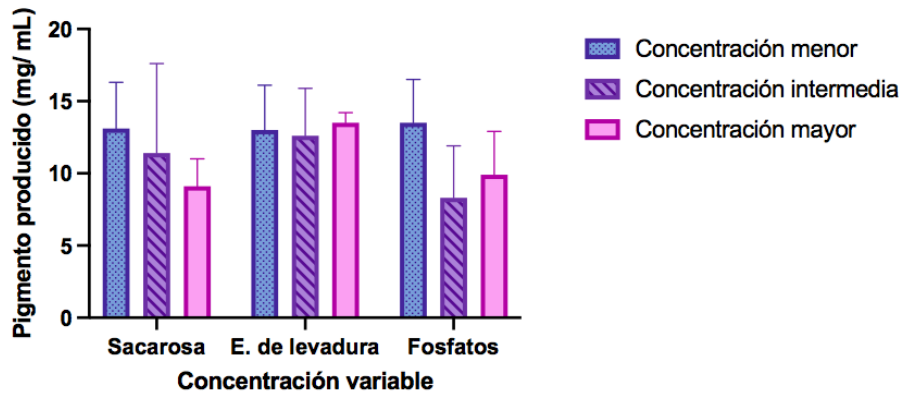
Figura 8: Pigmento producido (mg/mL) por microorganismo A en las formulaciones 7, 8 y 9, para las cuales se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásico (g/L).



Fuente: Elaboración propia.

*Pigmento producido (mg/mL): mg de pigmento producido por mL de sobrenadante obtenido tras la extracción. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio en el eje x de la figura (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de pigmento producido por cada triplicado utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 68.

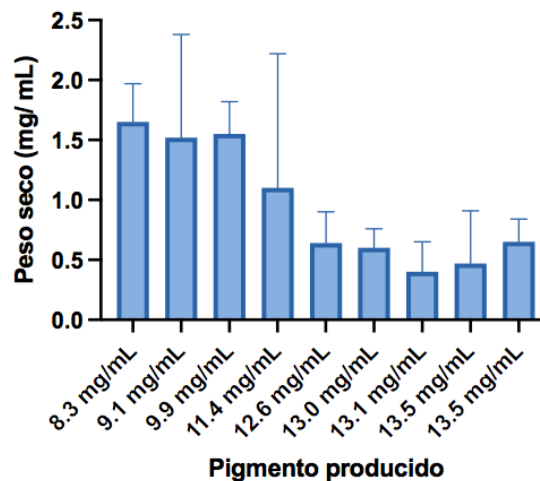
Figura 9: Pigmento producido por microorganismo A en las formulaciones 1-3, 4-6 y 7-9, donde se varió concentración de sacarosa, de extracto de levadura y de fosfatos de potasio monobásico, respectivamente.



Fuente: Elaboración propia.

*La concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico aumenta de manera ordinal, según lo presentado en las formulaciones (Ver Cuadro 7). Los valores de pigmento producido por cada triplicado utilizados para construir el gráfico se encuentran en los cuadros del 66 al 68.

Figura 10: Relación entre pigmento producido (mg/mL) y peso seco (mg/mL) obtenido del microorganismo A al finalizar cada fermentación por cada formulación desarrollada.



Fuente: Elaboración propia.

*Se ordenó la cantidad de pigmento producido de menor a mayor sobre el eje de las abscisas, para observar la relación directa entre este y el peso seco de biomasa obtenida. Los valores de pigmento utilizados para construir el gráfico se encuentran en los cuadros del 66 al 68 y los valores de peso seco de biomasa obtenida para construir el gráfico se encuentran en los cuadros del 84 al 86.

B. Microorganismo N

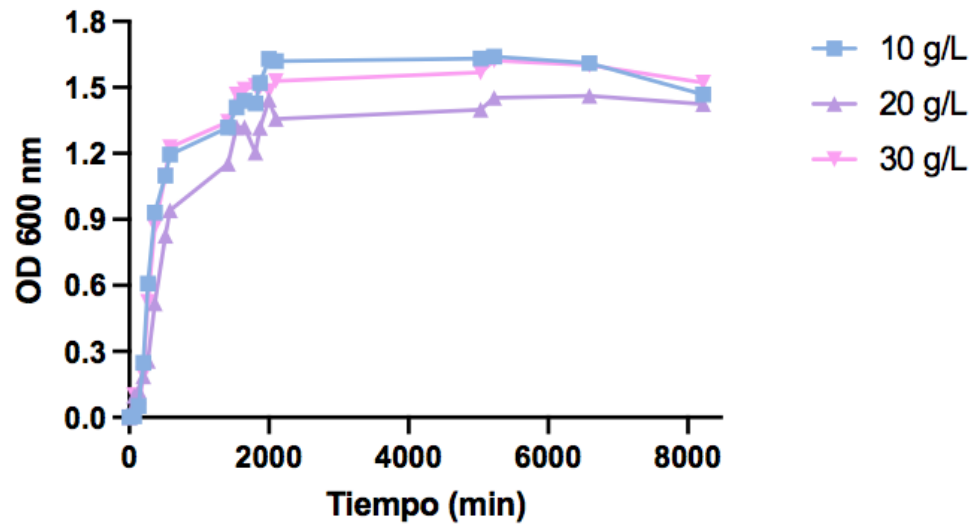
Cuadro 8: Nueve formulaciones de medio de cultivo desarrolladas para el crecimiento y producción de pigmentos del microorganismo N.

| Formulación desarrollada | Sacarosa (5×10^{-4} g/L) | Extracto de levadura (5×10^{-4} g/L) | K_2HPO_4 (5×10^{-4} g/L) | $(NH_4)_2SO_4$ (5×10^{-4} g/L) | NaCl (5×10^{-4} g/L) | $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (5×10^{-4} g/L) |
|--------------------------|------------------------------------|------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------------------|
| 1 | 10 | 2.5 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 2 | 20 | 2.5 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 3 | 30 | 2.5 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 4 | 30 | 1 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 5 | 30 | 2 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 6 | 30 | 3 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 7 | 30 | 3 | 0.5 | 0.5 | 5 | 1 |
| 8 | 30 | 3 | 1 | 0.5 | 5 | 1 |
| 9 | 30 | 3 | 1.5 | 0.5 | 5 | 1 |

Fuente: Elaboración propia.

*En las formulaciones 1, 2 y 3 se varió la concentración de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) y se mantuvieron constantes las concentraciones del resto de reactivos. En las formulaciones 4, 5 y 6 se varió la concentración de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) y se mantuvieron constantes las concentraciones del resto de reactivos. En las formulaciones 7, 8 y 9 se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) y se mantuvieron constantes las concentraciones del resto de reactivos. Las fermentaciones fueron llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Se conservó la formulación con la que se obtuvo mayor producción de pigmento para cada uno de los casos siguiendo el orden: 3, 6 y 8.

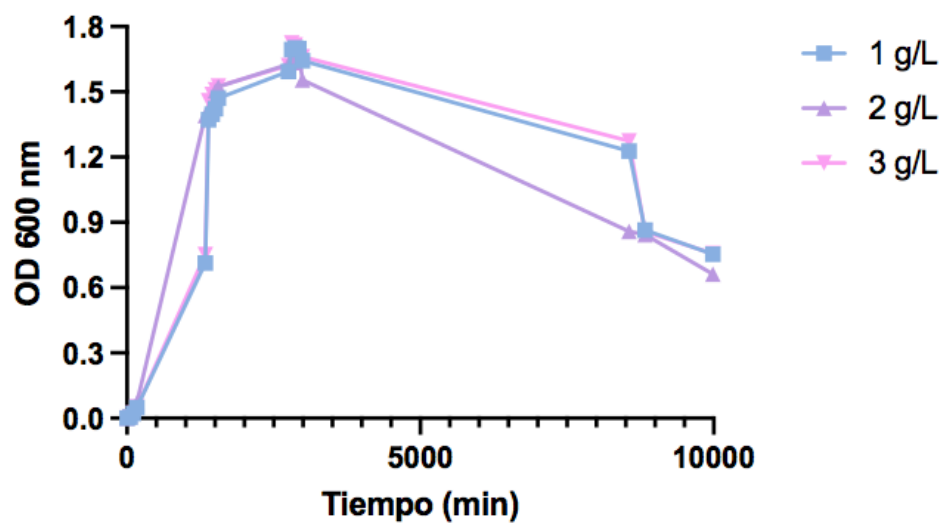
Figura 11: Crecimiento del microorganismo N en las formulaciones 1, 2 y 3, para las cuales se varió la concentración de sacarosa.



Fuente: Elaboración propia.

*OD 600 nm se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de sacarosa a la izquierda de la figura (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 45.

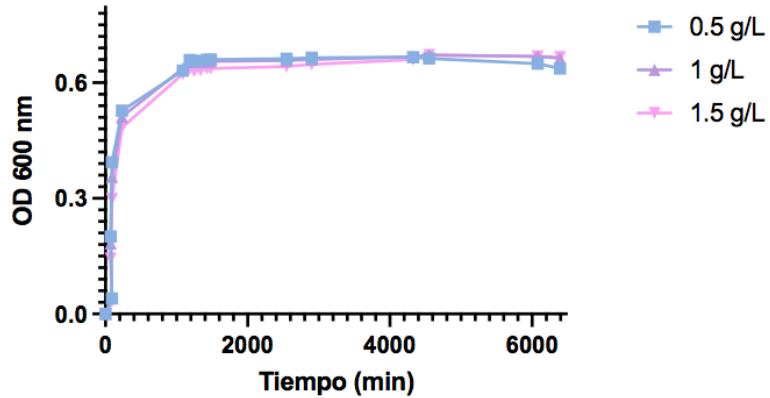
Figura 12: Crecimiento del microorganismo N en las formulaciones 4, 5 y 6, para las cuales se varió la concentración de extracto de levadura.



Fuente: Elaboración propia.

*OD 600 nm se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de extracto de levadura a la izquierda de la figura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 46.

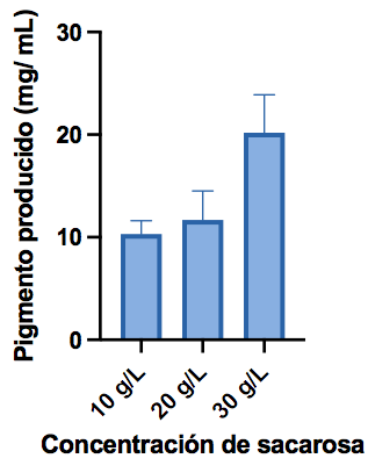
Figura 13: Crecimiento del microorganismo N en las formulaciones 7, 8 y 9, para las cuales se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásicos.



Fuente: Elaboración propia.

*OD 600 nm se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio a la izquierda de la figura (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 47.

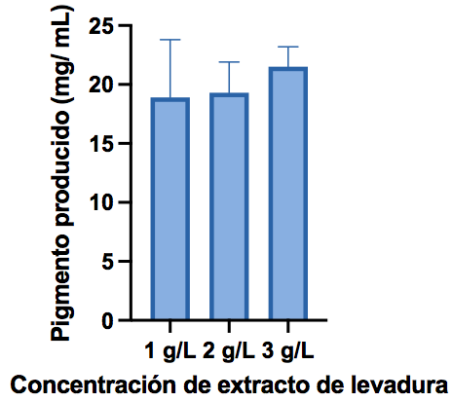
Figura 14: Pigmento producido (mg/mL) por el microorganismo N en las formulaciones 1, 2 y 3, para las cuales se varió la concentración de sacarosa (g/L).



Fuente: Elaboración propia.

*Pigmento producido (mg/mL): mg de pigmento producido por mL de sobrenadante obtenido tras la extracción. Las concentraciones indicadas de sacarosa en el eje x de la figura (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de pigmento producido por cada triplicado utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 63.

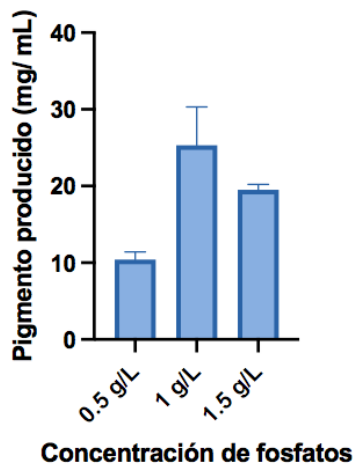
Figura 15: Pigmento producido (mg/mL) por el microorganismo N en las formulaciones 4, 5 y 6, para las cuales se varió la concentración de extracto de levadura (g/L).



Fuente: Elaboración propia.

*Pigmento producido (mg/mL): mg de pigmento producido por mL de sobrenadante obtenido tras la extracción. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura en el eje x de la figura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de pigmento producido por cada triplicado utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 64.

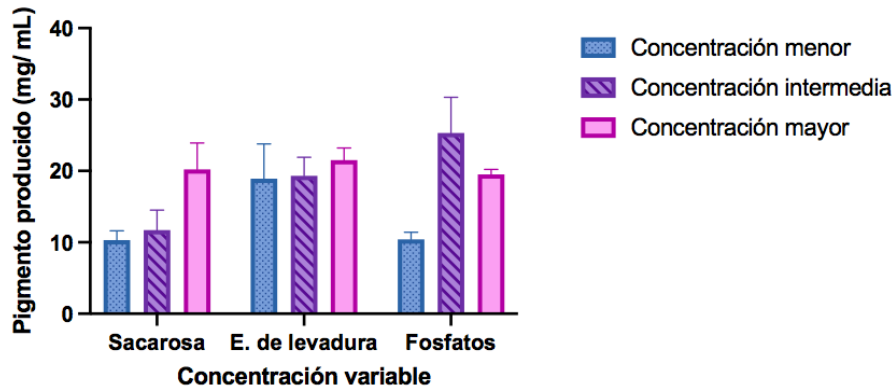
Figura 16: Pigmento producido (mg/mL) por el microorganismo N en las formulaciones 7, 8 y 9, para las cuales se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásico (g/L).



Fuente: Elaboración propia.

*Pigmento producido (mg/mL): mg de pigmento producido por mL de sobrenadante obtenido tras la extracción. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio en el eje x de la figura (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de pigmento producido por cada triplicado utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 65.

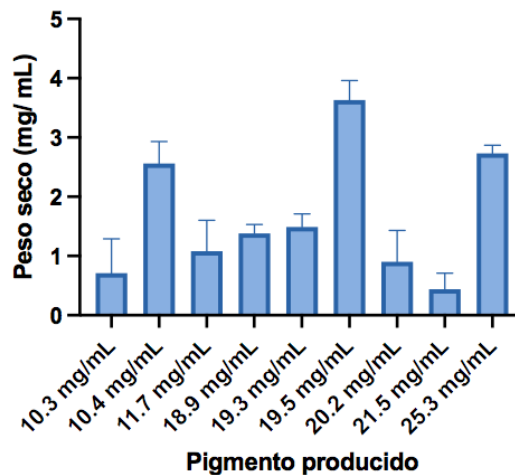
Figura 17: Pigmento producido por el microorganismo N en las formulaciones 1-3, 4-6 y 7-9, donde se varió concentración de sacarosa, de extracto de levadura y de fosfatos de potasio monobásico, respectivamente.



Fuente: Elaboración propia.

*La concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico aumenta de manera ordinal, según lo presentado en las formulaciones (Ver Cuadro 8). Los valores de pigmento producido por cada triplicado utilizados para construir el gráfico se encuentran en los cuadros del 63 al 65.

Figura 18: Relación entre pigmento producido (mg/mL) y peso seco (mg/mL) obtenido del microorganismo N al finalizar cada fermentación por cada formulación desarrollada.



Fuente: Elaboración propia.

*Se ordenó la cantidad de pigmento producido de menor a mayor sobre el eje de las abscisas, para observar la relación directa entre este y el peso seco de biomasa obtenida. Los valores de pigmento utilizados para construir el gráfico se encuentran en los cuadros del 63 al 65 y los valores de peso seco de biomasa obtenida para construir el gráfico se encuentran en los cuadros del 81 al 83.

C. Microorganismo R

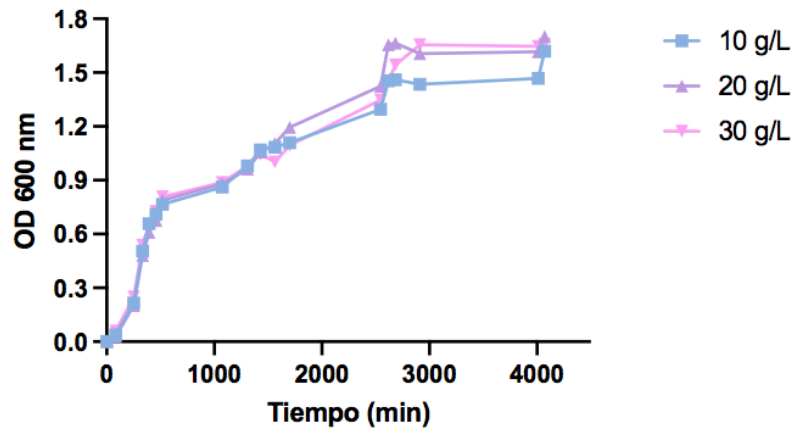
Cuadro 9: Nueve formulaciones de medio de cultivo desarrolladas para el crecimiento y producción de pigmentos del microorganismo R.

| Formulación desarrollada | Sacarosa (5×10^{-4} g/L) | Extracto de levadura (5×10^{-4} g/L) | K_2HPO_4 (5×10^{-4} g/L) | $(NH_4)_2SO_4$ (5×10^{-4} g/L) | NaCl (5×10^{-4} g/L) | $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (5×10^{-4} g/L) |
|--------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------------------|
| 1 | 10 | 2.5 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 2 | 20 | 2.5 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 3 | 30 | 2.5 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 4 | 30 | 1 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 5 | 30 | 2 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 6 | 30 | 3 | 1.25 | 0.5 | 5 | 1 |
| 7 | 30 | 2 | 0.5 | 0.5 | 5 | 1 |
| 8 | 30 | 2 | 1 | 0.5 | 5 | 1 |
| 9 | 30 | 2 | 1.5 | 0.5 | 5 | 1 |

Fuente: Elaboración propia.

*En las formulaciones 1, 2 y 3 se varió la concentración de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) y se mantuvieron constantes las concentraciones del resto de reactivos. En las formulaciones 4, 5 y 6 se varió la concentración de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) y se mantuvieron constantes las concentraciones del resto de reactivos. En las formulaciones 7, 8 y 9 se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) y se mantuvieron constantes las concentraciones del resto de reactivos. Las fermentaciones fueron llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Se conservó la formulación con la que se obtuvo mayor producción de pigmento para cada uno de los casos siguiendo el orden: 3, 5 y 9.

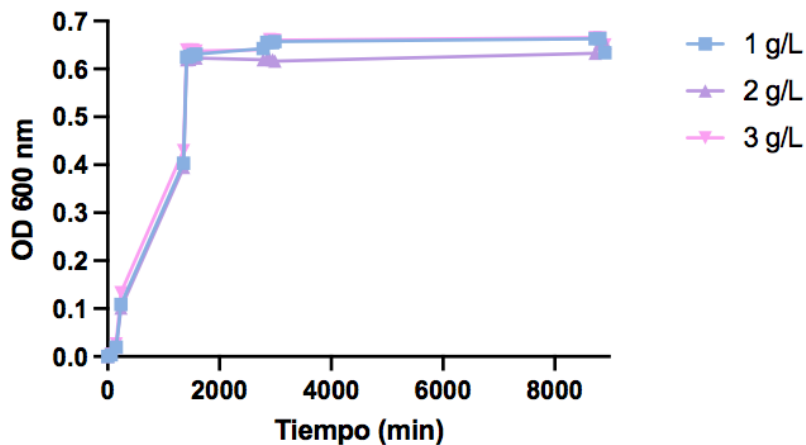
Figura 19: Crecimiento del microorganismo R en las formulaciones 1, 2 y 3, para las cuales se varió la concentración de sacarosa.



Fuente: Elaboración propia.

*OD 600 nm se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de sacarosa a la izquierda de la figura (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 51.

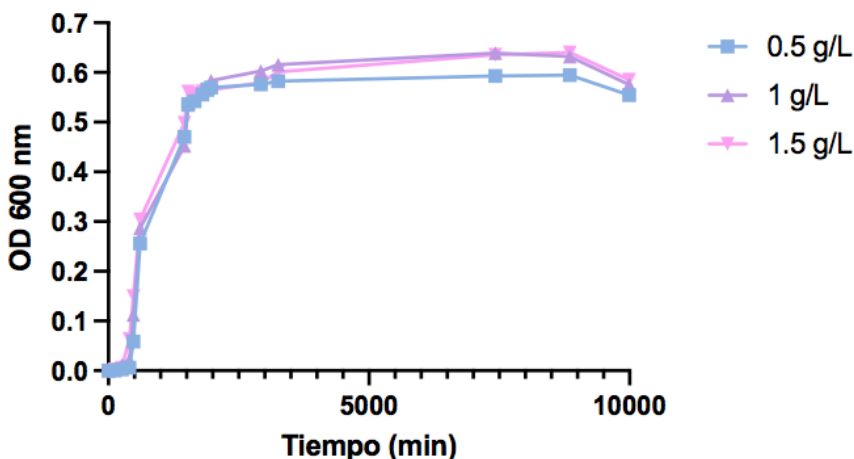
Figura 20: Crecimiento del microorganismo R en las formulaciones 4, 5 y 6, para las cuales se varió la concentración de extracto de levadura.



Fuente: Elaboración propia.

*OD 600 nm se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de extracto de levadura a la izquierda de la figura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 52.

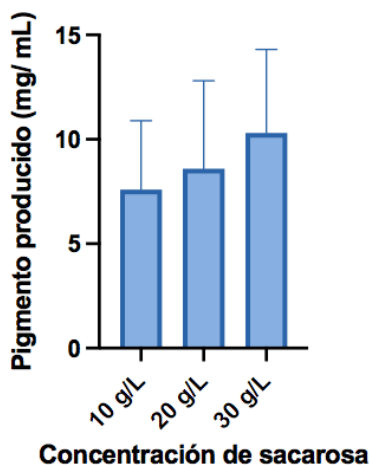
Figura 21: Crecimiento del microorganismo R en las formulaciones 7, 8 y 9, para las cuales se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásicos.



Fuente: Elaboración propia.

*OD 600 nm se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio a la izquierda de la figura (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 53.

Figura 22: Pigmento producido (mg/mL) por el microorganismo R en las formulaciones 1, 2 y 3, para las cuales se varió la concentración de sacarosa (g/L).

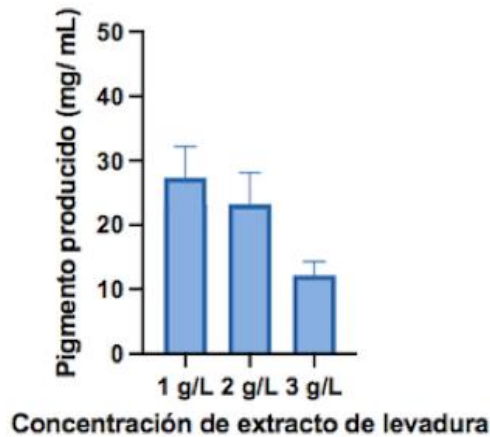


Fuente: Elaboración propia.

*Pigmento producido (mg/mL): mg de pigmento producido por mL de sobrenadante obtenido tras la extracción. Las concentraciones indicadas de sacarosa en el eje x de la figura (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales

de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de pigmento producido por cada triplicado utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 69.

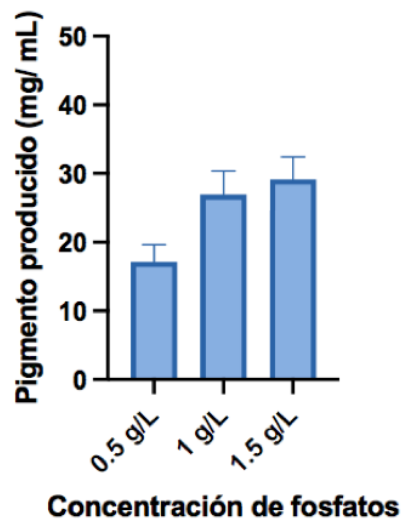
Figura 23: Pigmento producido (mg/mL) por el microorganismo R en las formulaciones 4, 5 y 6, para las cuales se varió la concentración de sacarosa (g/L).



Fuente: Elaboración propia.

*Pigmento producido (mg/mL): mg de pigmento producido por mL de sobrenadante obtenido tras la extracción. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura en el eje x de la figura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de pigmento producido por cada triplicado utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 70.

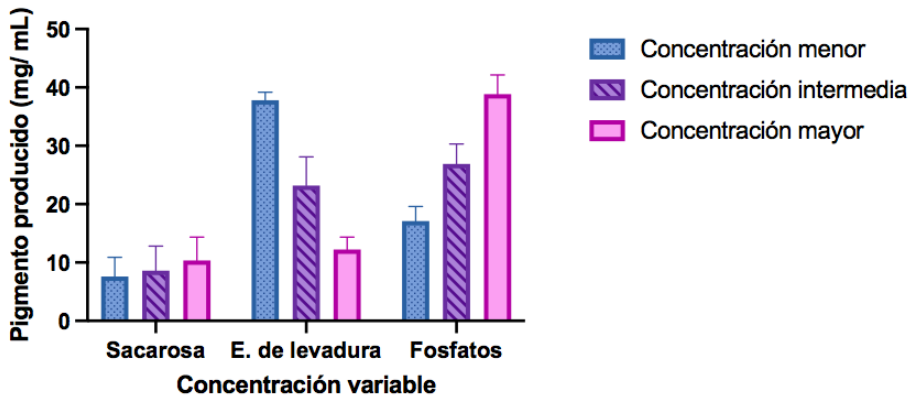
Figura 24: Pigmento producido (mg/mL) por el microorganismo R en las formulaciones 7, 8 y 9, para las cuales se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásico (g/L).



Fuente: Elaboración propia.

*Pigmento producido (mg/mL): mg de pigmento producido por mL de sobrenadante obtenido tras la extracción. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio en el eje x de la figura (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Los valores de pigmento producido por cada triplicado utilizados para construir el gráfico se encuentran en el Cuadro 71.

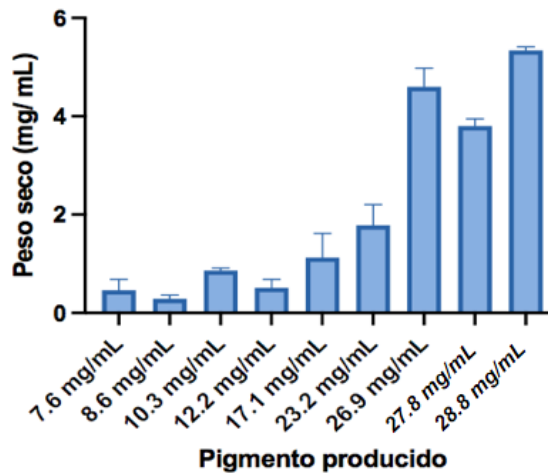
Figura 25: Pigmento producido por el microorganismo R en las formulaciones 1-3, 4-6 y 7-9, donde se varió concentración de sacarosa, de extracto de levadura y de fosfatos de potasio monobásico, respectivamente.



Fuente: Elaboración propia.

*La concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico aumenta de manera ordinal, según lo presentado en las formulaciones (Ver Cuadro 9). Los valores de pigmento producido por cada triplicado utilizados para construir el gráfico se encuentran en los cuadros del 69 al 71.

Figura 26: Relación entre pigmento producido (mg/mL) y peso seco (mg/mL) obtenido del microorganismo R al finalizar cada fermentación por cada formulación desarrollada.



Fuente: Elaboración propia.

*Se ordenó la cantidad de pigmento producido de menor a mayor sobre el eje de las abscisas, para observar la relación directa entre este y el peso seco de biomasa obtenida. Los valores de pigmento utilizados para construir el gráfico se encuentran en los cuadros del 69 al 71 y los valores de peso seco de biomasa obtenida para construir el gráfico se encuentran en los cuadros del 87 al 89.

D. Balances de masa

Figura 27: Balance de masa de la producción de pigmento a partir del microorganismo A en la formulación con la que se obtuvo mayor producción de pigmento.



Fuente: Elaboración propia.

*Balances obtenidos para fermentaciones realizadas a 37°C y 150 rpm para un volumen de 150 mL durante una semana. La formulación con la que se obtuvo mayor producción de pigmento fue la 7 (Cuadro 7 en Resultados).

Figura 28: Balance de masa de la producción de pigmento a partir del microorganismo N en la formulación con la que se obtuvo mayor producción de pigmento.



Fuente: Elaboración propia.

*Balances obtenidos para fermentaciones realizadas a 37°C y 150 rpm para un volumen de 150 mL durante una semana. La formulación con la que se obtuvo mayor producción de pigmento fue la 8 (Cuadro 8 en Resultados).

Figura 29: Balance de masa de la producción de pigmento a partir del microorganismo R en la formulación con la que se obtuvo mayor producción de pigmento.



Fuente: Elaboración propia.

*Balances obtenidos para fermentaciones realizadas a 37°C y 150 rpm para un volumen de 150 mL durante una semana. La formulación con la que se obtuvo mayor producción de pigmento fue la 9 (Cuadro 9 en Resultados).

E. Saturación de color de textiles teñidos

Cuadro 10: Saturación de color del textil teñido con pigmentos comerciales y pigmentos microbianos.

| Muestra | Color Pantone | Saturación (%) | | | |
|---------|------------------|------------------|-------------|-------------|-----------|
| | | Textil sin teñir | Comercial | Microbiano | |
| | | | | RGB | CIE L*A*B |
| 1 | 727 C (Naranja) | | | 19.96 ±0.16 | 18 ±0.05 |
| 2 | 7521 C (Naranja) | | | 21.91 ±0.83 | 18 ±0.05 |
| 3 | 466 C (Naranja) | 2.97 ±0.26 | 93.58 ±0.46 | 22.87 ±0.32 | 19 ±0.05 |
| 4 | 4665 C (Naranja) | | | 21.05 ±0.74 | 18 ±0.05 |

| Muestra | Color Pantone | Saturación (%) | | | |
|---------|----------------------|------------------|-------------|-------------|-----------|
| | | Textil sin teñir | Comercial | Microbiano | |
| | | | | RGB | CIE L*A*B |
| 5 | 155 C (Naranja) | | | 20.53 ±1.18 | 18 ±0.05 |
| 6 | 7507 C (Naranja) | | | 24.38 ±0.79 | 19 ±0.05 |
| 7 | 727 C (Naranja) | | | 23.02 ±0.80 | 19 ±0.05 |
| 8 | 155 C (Naranja) | | | 17.61 ±0.40 | 17 ±0.05 |
| 9 | 466C (Naranja) | | | 15.39 ±0.62 | 17 ±0.05 |
| 10 | 7499 C (Amarillo) | | | 25.86 ±0.74 | 20 ±0.05 |
| 11 | 614 C (Amarillo) | | | 17.05 ±0.59 | 17 ±0.05 |
| 12 | 5807 C (Amarillo) | | 56.73 ±0.95 | 14.41 ±2.80 | 17 ±0.05 |
| 13 | 7500 C (Amarillo) | | | 18.79 ±1.73 | 18 ±0.05 |

| Muestra | Color Pantone | Saturación (%) | | | |
|---------|----------------------|------------------|-----------|-------------|-----------|
| | | Textil sin teñir | Comercial | Microbiano | |
| | | | | RGB | CIE L*A*B |
| 14 | 5865 C (Amarillo) | | | 11.45 ±0.31 | 16 ±0.05 |
| 15 | 454 C (Amarillo) | | | 16.74 ±0.48 | 17 ±0.05 |
| 16 | 7499 C (Amarillo) | | | 21.86 ±0.10 | 18 ±0.05 |
| 17 | 615 C (Amarillo) | | | 20.20 ±0.52 | 18 ±0.05 |
| 18 | 7499 C (Amarillo) | | | 23.38 ±0.08 | 19 ±0.05 |
| 19 | 7499 C (Amarillo) | | | 21.06 ±0.41 | 18 ±0.05 |
| 20 | 600 C (Amarillo) | | | 23.50 ±0.79 | 19 ±0.05 |
| 21 | 615 C (Amarillo) | | | 25.52 ±0.17 | 20 ±0.05 |
| 22 | 614 C (Amarillo) | | | 22.55 ±1.12 | 19 ±0.05 |
| 23 | 7499 C (Amarillo) | | | 24.91 ±0.12 | 19 ±0.05 |

| Muestra | Color Pantone | Saturación (%) | | | |
|---------|-------------------|------------------|-------------|-------------|-----------|
| | | Textil sin teñir | Comercial | Microbiano | |
| | | | | RGB | CIE L*A*B |
| 24 | 7499 C (Amarillo) | | | 19.57 ±0.50 | 18 ±0.05 |
| 25 | 5803C (Verde) | | | 14.88 ±0.39 | 17 ±0.05 |
| 26 | 7485 C (Verde) | | 93.17 ±0.29 | 15.75 ±0.63 | 17 ±0.05 |
| 27 | 600 C (Amarillo) | | 56.73 ±0.95 | 17.62±0.11 | 18 ±0.05 |

Fuente: Elaboración propia.

*Las muestras 1-9, 10-18 y 19-27 corresponden a textiles teñidos con pigmentos obtenidos del microorganismo N, microorganismo R y microorganismo A, respectivamente. Los valores de porcentaje de saturación para construir el cuadro se encuentran en los cuadros del 90 al 93.

VIII. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se extrajeron pigmentos microbianos y se evaluó su funcionamiento como potencial alternativa a los fabricados convencionalmente. Esto se logró a través del desarrollo de nueve formulaciones de medios de cultivo para determinar el potencial de crecimiento microbiano de tres cepas aisladas de suelo, para posteriormente evaluar el rendimiento de producción y extracción de pigmentos para cada una. Con ello, se logró comparar su funcionamiento con pigmentos comerciales al teñir un textil definido mediante técnicas de la saturación del color.

Para obtener cepas microbianas potenciales para la producción y extracción de pigmentos, se eligió aislar las mismas de un ambiente en donde se conoce que hay una alta cantidad de seres vivos, desde bacterias hasta hongos. Esto con el fin de aumentar las probabilidades de aislar una colonia pigmentada de un color comúnmente utilizado en la industria. Además, al ser microorganismos aislados del suelo, específicamente de tierra ubicada en plantaciones de caña de azúcar, se evita el trabajo con seres vivos desconocidos que podrían llegar a ocasionar un desbalance en el ecosistema de ser puestas en contacto con otros seres vivos, es decir, invadir y dañar a las especies nativas. Al ser cepas aisladas del suelo, es importante notar que si la producción decide expandirse a otras áreas biológicas, las mismas tienden a ser productoras de diferentes tipos de compuestos, en donde la mayoría son promotoras del crecimiento en plantas, pudiendo ser utilizadas para la producción de biofertilizantes (Alves, *et al*, 2016; Khaneja, *et al*, 2019).

Tras varios pasos de selección, se lograron aislar 3 cepas microbianas prometedoras en agar tripticosa soya (Ver Figura 30 en Anexos). Para determinar si las mismas pertenecían a bacterias o a hongos, se identificaron macroscópicamente (Ver Cuadro 124 en Anexos). La primera cepa microbiana nombrada como cepa A, presentó un color amarillo. Además, se puede observar que la misma tiene forma circular, elevación convexa y un borde entero. Su superficie es suave y brillante, con poca opacidad y una textura húmeda y viscosa. La segunda cepa microbiana nombrada como cepa N, presentó un color naranja. La misma presenta una forma circular, elevada, con margen entero y una superficie suave y brillante. Tiene opacidad clara y una textura húmeda. La última

cepa aislada, nombrada como cepa R, presentó características similares a la cepa A, con color amarillo. Se observa que la colonia tiene forma circular, tiene elevación convexa con un margen entero y su superficie es suave y brillante. Además, presenta baja opacidad y su textura es húmeda. Tras esta caracterización morfológica de las colonias microbianas, se determinó que se aislaron bacterias y no hongos. Las mismas fueron identificadas como bacterias ya que las colonias bacterianas tienden a ser pequeñas con márgenes definidos y superficies lisas, a diferencia de las fúngicas que son grandes con apariencia difusa. Además, las bacterianas se observan brillantes, húmedas, mantecosas o mucoides, mientras que las fúngicas son opacas, casi polvorosas. Algunas hasta presentan hifas, por lo que tienden a tener una forma filamentosa o rizoide. Además, al presentar diámetros menores de 1 mm, se confirma su clasificación como colonias bacterianas (Reynolds, 2019).

Para poder identificar de la mejor manera las cepas aisladas, es aconsejable realizar una caracterización microscópica de los microorganismos aislados mediante diferentes tinciones, en especial la tinción Gram. Asimismo, realizar pruebas bioquímicas y evaluación de crecimiento en diferentes medios de cultivos para definir su capacidad de metabolizar ciertos compuestos. También es necesaria la identificación molecular y genética de los mismos mediante la amplificación y secuenciación de la región codificadora 16s rRNA tras llevar a cabo una extracción de ADN. Esto con el fin de comparar las secuencias obtenidas en bases de datos masivas, como la “Basic Local Allignment Search Tool” mejor conocida como BLAST, y poder identificar cada uno genéticamente hasta especie (Usman, *et al*, 2018; Padhan, 2021).

Para el desarrollo de las nueve formulaciones de medios de cultivo para determinar el potencial de crecimiento microbiano y para evaluar el rendimiento de producción y extracción de las cepas a utilizar, se decidió incluir en el mismo sacarosa como fuente de carbono, extracto de levadura como fuente de nitrógeno orgánico, sulfato de amonio como fuente de nitrógeno inorgánico, fosfatos de potasio como fuente de fósforo y potasio, cloruro de sodio como fuente de sodio y sulfato de magnesio hepta hidratado como fuente de magnesio. Debido a que la fuente de carbono, la fuente de nitrógeno y la fuente de fósforo es de los factores más importantes para el crecimiento y desarrollo de una cepa bacteriana, se decidió variar los mismos para el desarrollo de los medios de cultivo dejando constantes el resto de reactivos mencionados anteriormente. Adicionalmente, se eligieron para determinar el efecto de los mismos sobre la producción de pigmento de cada una de las cepas (Banerjee, *et al*, 2011; Hernandez- Almanza, *et al*, 2014; Khaneja, *et al*, 2019).

Como fuente de carbono se utilizó sacarosa, ya que con esto se pretende imitar o replicar el contenido de este compuesto en desechos o sub productos de otros procesos, dentro de ellos melaza, por ejemplo. Se utilizó este sustrato ya que se sabe que la mayoría de bacterias utilizan el mismo o son capaces de utilizarlo como fuente de carbono. A través del análisis del genoma bacteriano, se ha determinado que una parte sustancial de este está dedicado a genes relacionados con la degradación de carbohidratos, incluyendo una gran variedad de glucosil hidrolasas. Una variedad de enzimas pertenecientes a las clases hidrolíticas o fosforolíticas catalizan el catabolismo intracelular de la sacarosa, logrando la hidrólisis de la fracción fructosa terminal en disacáridos, trisacáridos y polímeros que contienen esta molécula con distintos grados de especificidad. Este grupo de proteínas la hidrolizan en fructosa y glucosa, y la glucosa se fosforila y pueden entrar a la vía glucolítica como glucosa-6-fosfato mediante la célula bacteriana. La fructosa resultante del catabolismo de la sacarosa es generalmente fosforilada mediante fructoquinasas dependientes de ATP, para dar paso a fructosa-6-fosfato, un intermediario en la vía glucolítica (Reid y Abratt, 2005).

De los tres compuestos mencionados anteriormente, los más relevantes son la fuente de carbono y el nitrógeno, por los que fueron los primeros compuestos en evaluarse en las diferentes formulaciones de medio de cultivo. Tras cada variación de concentración por compuesto, se eligió el medio de cultivo que representó la mayor producción de pigmento para utilizar esa concentración para las siguientes formulaciones variando la concentración del siguiente compuesto. Se utilizaron concentraciones altas de sacarosa de 10, 20 y 30 g/L, concentraciones bajas de extracto de levadura de 1, 2 y 3 g/L y concentraciones altas de fosfato de potasio de 0.5, 1 y 1.5 g/L. Esto tomando en consideración estudios realizados por otros autores y el conocimiento de que los pigmentos son metabolitos secundarios, es decir, compuestos que se producen bajo estrés y son respuesta de los microorganismos a condiciones poco favorables (Banerjee, *et al*, 2011; Hernandez- Almanza, *et al*, 2014; Khaneja, *et al*, 2019).

Para el microorganismo A, se inició formulando tres medios de cultivo, en donde se varió la concentración de sacarosa con las concentraciones mencionadas anteriormente y su efecto en esta cepa específica. Para las primeras tres formulaciones de medio de cultivo (Ver Cuadro 7 en Resultados), se puede observar que el crecimiento del microorganismo en las condiciones estudiadas para las diferentes concentraciones de sacarosa no varió de manera significativa, pero de igual manera se puede observar que la mayor densidad óptica se presentó con la concentración más baja de sacarosa (10 g/L), seguida de la concentración de 30 g/L y finalmente la de 20 g/L (Ver Figura 3 en Resultados). Asociado a esto, se determinó que la mayor producción de pigmento se

dio utilizando la concentración más baja de sacarosa de 10 g/L, con un valor promedio de 13.1 ± 3.2 mg/mL. Se puede observar que a medida que se aumenta la concentración de sacarosa, la producción de pigmento disminuye a tal grado que para una concentración de sacarosa de 30 g/L, la producción de pigmento es de 9.1 ± 1.9 mg/mL (Ver Cuadro 66 en Anexos).

Para las siguientes tres formulaciones de medio de cultivo, es decir las formulaciones 4, 5 y 6 (Ver Cuadro 7 en Resultados), en donde se varió la concentración de extracto de levadura, se pudo observar que el microorganismo presentó mayor densidad óptica a una concentración de 3 g/L y para las dos concentraciones adicionales no presentó diferencia de crecimiento (Ver Figura 4 en Resultados). La mayor producción de pigmento se dio al utilizar una concentración de 3 g/L de 13.5 ± 0.7 mg/mL, seguida de la concentración de 1 g/L de 13.0 ± 3.1 mg/mL y finalmente la concentración de 2 g/L con una producción de 12.6 ± 3.3 mg/mL (Ver Cuadro 67 en Resultados). Se determinó a partir de esto que el pigmento producido no depende de la concentración de la fuente de nitrógeno, ya que los valores son bastante similares para los mismos.

En las tres últimas formulaciones de medio de cultivo (Ver Cuadro 7 en Resultados), se observó que la variación de fosfatos de potasio en el medio no representa diferencias en la densidad óptica medida. Esto indica que este compuesto no afecta directamente sobre el crecimiento de las bacterias (Ver Figura 5 en Resultados). En cuanto a la producción de pigmentos, se puede observar una mayor producción de pigmentos con una concentración de 0.5 g/L con un valor de 13.5 ± 3.0 mg/mL, seguido de la concentración de 1.5 g/L de 9.9 ± 3.0 mg/mL y de 1 g/L con un valor de 8.3 ± 3.6 mg/mL (Ver Figura 9 en Resultados y Cuadro 68 en Anexos). Tras analizar los medios de cultivo, en cuanto a rendimiento, se determinó que el mejor dentro de los nueve formulados para esta cepa es la formulación 7, con una concentración de sacarosa de 10 g/L, de extracto de levadura de 3 g/L y una concentración de fosfatos de potasio de 0.5 g/L.

Al evaluar la Figura 9 (Ver en Resultados), se observa que la producción de pigmentos entre las concentraciones menores de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos es similar, al igual que para las tres concentraciones de extracto de levadura variadas. Con esto, se determina que para el microorganismo A, la producción de pigmento es dependiente de la concentración de sacarosa y de fosfatos de potasio, mas no de la del extracto de levadura. Finalmente, en la Figura 10 (Ver en Resultados), se puede observar la relación entre pigmento producido y peso seco del microorganismo. Se estableció una relación, en donde a mayor producción de pigmento, menor peso seco. Es importante mencionar que se obtuvieron pigmentos de color amarillo para todas las

formulaciones, exceptuando las formulaciones 7 y 8, con la menor concentración de fosfatos de potasio, en donde se obtuvieron pigmentos de color verde (Ver Figura 34 en Anexos).

En cuanto al microorganismo N, para las primeras tres formulaciones de medio de cultivo (Ver Cuadro 8 en Resultados), se puede observar que se obtuvo mayor crecimiento del microorganismo en las condiciones estudiadas para las concentraciones de sacarosa de 10 g/L, seguida de la concentración de 30 g/L y 20 g/L. El crecimiento, que con el microorganismo A, no varió de manera significativa, pero de igual manera se puede observar que la mayor densidad óptica se presentó con la concentración más baja de sacarosa (10 g/L), seguida de la concentración de 30 g/L y finalmente la de 20 g/L (Ver Figura 11 en Resultados). Asociado a esto, se determinó que la mayor producción de pigmento se dio utilizando la concentración más alta de sacarosa de 30 g/L, con un valor promedio de 20.2 ± 3.7 mg/mL. Se puede observar que a medida que se disminuye la concentración de sacarosa, la producción de pigmento disminuye a tal grado que para una concentración de sacarosa de 10 g/L, la producción de pigmento es de 10.3 ± 1.3 mg/mL (Ver Cuadro 63 en Anexos).

Para las siguientes tres formulaciones de medio de cultivo, es decir las formulaciones 4, 5 y 6 (Ver Cuadro 8 en Resultados), en donde se varió la concentración de extracto de levadura, se pudo observar que el microorganismo presentó mayor densidad óptica a una concentración de 3 g/L y 1 g/L, ya que ambas estaban casi superpuestas, seguida de la concentración de 2 g/L (Ver Figura 12 en Resultados). La mayor producción de pigmento se dio al utilizar una concentración de 3 g/L de 21.5 ± 1.7 mg/mL y se puede observar que a medida que se disminuía la concentración de extracto de levadura, la producción de pigmento disminuye a tal grado que para una concentración de extracto de levadura de 1 g/L, la producción de pigmento es de 18.9 ± 4.9 mg/mL (Ver Cuadro 64 en Anexos). De igual forma, la cantidad de pigmento producido no varía significativamente, por lo que al igual que el microorganismo A, no depende de la concentración de la fuente de nitrógeno.

En las tres últimas formulaciones de medio de cultivo (Ver Cuadro 8 en Resultados), se observó que la variación de fosfatos de potasio en el medio no representa diferencias en la densidad óptica medida. Esto indica que este compuesto no afecta directamente sobre el crecimiento de las bacterias (Ver Figura 13 en Resultados). En cuanto a la producción de pigmentos, se puede observar una mayor producción de pigmentos con una concentración de 1 g/L con un valor de 25.3 ± 5.0 mg/mL, seguido de la concentración de 1.5 g/L de 19.5 ± 0.7 mg/mL y de 0.5 g/L con un valor de 10.4 ± 1.0 mg/mL (Ver Figura 16 en Resultados y Cuadro 65 en Anexos). Tras analizar los medios de cultivo, en cuanto a rendimiento, se determinó que el mejor dentro de los nueve formulados para esta cepa

es la formulación 8, con una concentración de sacarosa de 30 g/L, de extracto de levadura de 3 g/L y una concentración de fosfatos de potasio de 1 g/L.

Al evaluar la Figura 17 (Ver en Resultados), se observa que la producción de pigmentos entre la mayor concentración de sacarosa y todas las concentraciones utilizadas de extracto de levadura es similar, mientras que el único compuesto que no presenta tendencia son los fosfatos de potasio. Con esto, se determina que para el microorganismo N, la producción de pigmento es dependiente de la concentración de sacarosa y de fosfatos de potasio, mas no de la del extracto de levadura. Finalmente, en la Figura 18 (Ver en Resultados), se puede observar la relación entre pigmento producido y peso seco del microorganismo. Se estableció que para este microorganismo no existe una relación entre pigmento producido y peso seco del mismo, por lo que cada aspecto es independiente uno del otro. Para todas las formulaciones se obtuvieron pigmentos de color naranja (Ver Figura 33 en Anexos).

Para el microorganismo R, para las primeras tres formulaciones de medio de cultivo (Ver Cuadro 9 en Resultados), se puede observar que se obtuvo mayor crecimiento del microorganismo en las condiciones estudiadas para la concentraciones de sacarosa de 20 y 30g/L, casi superpuestas, seguida de la concentración de 10 g/L (Ver Figura 19 en Resultados). Esto indica que a partir de 20 g/L de concentración de sacarosa el crecimiento del microorganismo no varía de manera significativa. Asociado a esto, se determinó que la mayor producción de pigmento se dio utilizando la concentración más alta de sacarosa de 30 g/L, con un valor promedio de 10.3 ± 4.0 mg/mL. Se puede observar que a medida que se disminuye la concentración de sacarosa, la producción de pigmento disminuye a tal grado que para una concentración de sacarosa de 10 g/L, la producción de pigmento es de 7.6 ± 3.3 mg/mL (Ver Cuadro 69 en Anexos).

Para las siguientes tres formulaciones de medio de cultivo, es decir las formulaciones 4, 5 y 6 (Ver Cuadro 9 en Resultados), en donde se varió la concentración de extracto de levadura, se pudo observar que el microorganismo presentó mayor densidad óptica a una concentración de 3 g/L y 1 g/L, ya que ambas estaban casi superpuestas, seguida de la concentración de 2 g/L (Ver Figura 20 en Resultados). La mayor producción de pigmento se dio al utilizar una concentración de 1 g/L de 27.8 ± 1.4 mg/mL y se puede observar que a medida que se aumenta la concentración de extracto de levadura, la producción de pigmento disminuye a tal grado que para una concentración de extracto de levadura de 3 g/L, la producción de pigmento es de 12.2 ± 2.1 mg/mL (Ver Cuadro 70 en Anexos). En este caso, a diferencia de los dos microorganismos mencionados anteriormente, la concentración de extracto de levadura si tiene una influencia en la producción de pigmento.

En las tres últimas formulaciones de medio de cultivo (Ver Cuadro 9 en Resultados), se observó que la variación de fosfatos de potasio en el medio si presentó una leve variación en densidad óptica, en donde esta medición es mayor a una concentración de 1 g/L y 1.5 g/L, ya que ambas estaban casi superpuestas, seguida de la concentración de 0.5 g/L (Ver Figura 21 en Resultados). En cuanto a la producción de pigmentos, se puede observar una mayor producción de pigmentos con una concentración de 1.5 g/L con un valor de 28.8 ± 3.3 mg/mL y se puede observar que a medida que se disminuye la concentración de fosfatos de potasio, la producción de pigmento disminuye a tal grado que para una concentración de fosfatos de potasio de 0.5 g/L, la producción de pigmento es de 17.1 ± 2.5 mg/mL (Ver Figura 24 en Resultados y Cuadro 71 en Anexos). Tras analizar los medios de cultivo, en cuanto a rendimiento, se determinó que el mejor dentro de los nueve formulados para esta cepa es la formulación 9, con una concentración de sacarosa de 30 g/L, de extracto de levadura de 1 g/L y una concentración de fosfatos de potasio de 1.5 g/L.

Al evaluar la Figura 25 (Ver en Resultados), se observa que la producción de pigmentos no es significativamente dependiente de la concentración de sacarosa, a pesar de que si se observa una ligera tendencia en la producción de pigmentos, en donde a mayor concentración de sacarosa, mayor producción. Esta tendencia se mantiene al variar la concentración de fosfatos, pero esta si se observa y cataloga como significativa ya que la diferencia es amplia. En cuanto a las concentraciones de extracto de levadura, presenta la tendencia contraria, en donde a menor cantidad de extracto de levadura utilizado, mayor producción de pigmento. Con esto, se determina que para el microorganismo R, la producción de pigmento es dependiente de los tres compuestos evaluados: concentración de sacarosa, de extracto de levadura y de fosfatos de potasio. Finalmente, en la figura 26 (Ver en Resultados), se puede observar la relación entre pigmento producido y peso seco del microorganismo. Se estableció una relación, en donde a mayor producción de pigmento, mayor peso seco. Para todas las formulaciones de medio de cultivo se obtuvieron pigmentos amarillos (Ver Figura 35 en Anexos).

Como se puede observar en las curvas de crecimiento para cada cepa, la mayoría de las mismas permaneció en a fase estacionaria de crecimiento durante la mayoría del tiempo de fermentación (Ver sección de Resultados y Figuras 31 a 32 en Anexos). Esto indica que los pigmentos obtenidos a través las tres cepas son producidos cuando las mismas encuentran dificultades para continuar dividiéndose, es decir, cuando los nutrientes inician a escasear. Las cepas entran en modo “supervivencia” y como respuesta producen compuestos llamados metabolitos secundarios que les permitan sobrevivir y seguirse dividiendo la mayor cantidad de tiempo posible. La síntesis de metabolitos secundarios es altamente regulada, por lo que sabiendo que estos pigmentos lo son se

puede establecer qué tipo de reactores y condiciones de producción específicas se necesitarían para poder mantener las bacterias en fase estacionaria y no exponencial, que es lo que se desea comúnmente (Pumarola, 2009).

Tras analizar los balances de masa para cada bacteria (Ver Figuras de la 27 a la 29 en Resultados), se puede observar que las tres utilizaron el medio de cultivo para producir en su mayoría pigmento, el producto de interés, ya que se obtuvo un rendimiento de formación de producto contra consumo de medio de 62, 68 y 72% para las cepas N, A y R, respectivamente. Esto quiere decir que el resto de medio agregado no se utilizó por completo o se utilizó para crecimiento celular, mantenimiento y subproductos. A pesar de que presentaron rendimientos diferentes, no se puede establecer que se prefiere utilizar una bacteria sobre otra debido a que las tres producen pigmentos con coloraciones diferentes. Estos resultados solo permiten enfocarse en la posibilidad de mejorar el proceso para la producción de pigmentos, evitando principalmente la utilización de energía y sustratos para subproductos (Castañeda, 2016).

Además de los factores evaluados anteriormente para observar su efecto en la producción de pigmentos, se recomienda determinar el efecto de la variación de condiciones de crecimiento para cada cepa microbiana, en donde se podrían mencionar la temperatura, el pH, la presencia de luz, agitación, aereación y cambios en la concentración de otros reactivos vitales para el crecimiento microbiano como los más relevantes. Al establecer los factores que favorezcan la producción de pigmentos, se recomienda realizar un estudio cinético de los diferentes microorganismos evaluados en los medios de cultivo que presentaron mayor producción de pigmentos para poder escalar de manera adecuada el proceso, procurando mantener las condiciones de las fermentaciones similares para evitar una disminución en el rendimiento. Además, se considera que valdría la pena evaluar si la hidrólisis de la sacarosa previamente a su adición al medio de cultivo propicia y facilita la producción de pigmentos. Finalmente, se recomienda realizar una caracterización de posibles subproductos a lo largo de la fermentación para determinar si hay algún compuesto significativo que pueda ser utilizado o comercializado o para evaluar si algún subproducto podría estar afectando negativamente la producción y rendimiento de los pigmentos (Usman, *et al*, 2018; Padhan, 2021).

Para llevar a cabo la extracción, se utilizaron varios solventes con el fin de evaluar la polaridad de los pigmentos obtenidos. Se inició evaluando el solvente más apolar (cloroformo) al más polar (agua) con solventes de polaridad intermedia utilizando éter, luego con acetona y finalmente con metanol. Tras llevar a cabo la extracción de los cuatro pigmentos diferentes obtenidos, se obtuvo que los cuatro son mayormente solubles en agua, ya que tras la extracción con diferentes solventes

el mismo siguió presentando mayor polaridad siendo afín al agua. Se observó que, por cada solvente utilizado para la extracción, que se separaban compuestos del sobrenadante en proceso de extracción. Esto es altamente beneficioso ya que se sabe que al momento de evaluar el rendimiento de pigmentos, el sobrenadante iba con un grado de purificación por la remoción de estos compuestos mencionados anteriormente. Además de esto, que los pigmentos sean mayormente solubles en agua es altamente ventajoso, ya que, al momento de ser producido, no hay necesidad de invertir y aumentar costos por la utilización de solventes orgánicos. Además de esto, se reduce el peligro por toxicidades de los mismos a los operarios en donde se este produciendo el mismo y para el desecho de afluentes. De igual manera, para evaluar métodos de extracción alternativos a la extracción con solventes, como extracción asistida por ultrasonido (UAE), extracción asistida por microondas (MAE), extracción de líquido presurizado (PLE), extracción con fluidos supercríticos (SFE), extracción asistida por campo eléctrico (PFE) y extracción asistida por líquidos iónicos y evaluar la preservación de la composición de las moléculas de pigmento para ver con cual método se beneficia la extracción de pigmentos (Khaneja, *et al*, 2019; Pavia, *et al*, 2011; Dawoud, *et al*, 2020; Pandiyarajan, *et al*, 2018).

Para comparar el funcionamiento de los pigmentos microbianos y pigmentos comerciales, se realizaron tinciones en un textil definido y se analizó el porcentaje de saturación utilizando el software Adobe Photoshop para analizar el mismo en el espacio de color RGB y un densitómetro para analizar el mismo en el espacio de color CIE L*A*B (Ver Cuadro 10 en Resultados). Estos porcentajes de saturación son comparables debido a que se utilizó una concentración de 1 mg/mL de pigmento microbiano y comercial para todas las pruebas. Para los pigmentos obtenidos a partir del microorganismo A, se obtuvieron pigmentos amarillos para todas las formulaciones, exceptuando las formulaciones 7 y 8, en donde se obtuvieron pigmentos verdes. Para los 6 pigmentos amarillos obtenidos, al aplicarlos en el textil utilizado, que en este caso fue algodón para todos, presentaron porcentajes de saturación de entre $17.62 \pm 0.11\%$ a $25.52 \pm 0.17\%$ en el espacio RGB y entre $18 \pm 0.05\%$ a $20 \pm 0.05\%$ en el espacio CIE L*A*B, comparandolo con la saturación del pigmento comercial amarillo, con un valor de $56.73 \pm 0.95\%$. En cuanto a los pigmentos verdes, se obtuvo un porcentaje de saturación en el textil de $14.88 \pm 0.39\%$ y $15.75 \pm 0.63\%$ en el espacio RGB y de $17 \pm 0.05\%$ para ambos pigmentos en el espacio CIE L*A*B, en comparación de un porcentaje de saturación del pigmento comercial verde de $93.17 \pm 0.29\%$. Para los pigmentos obtenidos a partir del microorganismo N, se obtuvieron pigmentos naranjas para todas las formulaciones de medio de cultivo. Se obtuvieron porcentajes de saturación en el textil de entre $15.39 \pm 0.62\%$ y $24.38 \pm 0.79\%$ en el espacio RGB y entre $17 \pm 0.05\%$ a $19 \pm 0.05\%$ en el espacio

CIE L*A*B para los pigmentos microbianos, mientras que el pigmento comercial en la tela presentó una saturación de $93.58 \pm 0.46\%$. Finalmente, se obtuvieron pigmentos de color amarillo para todas las formulaciones de medio de cultivo utilizados para el microorganismo R. Estos presentaron una saturación del color en el textil de entre $11.45 \pm 0.31\%$ y $25.86 \pm 0.74\%$ en el espacio RGB y entre $16 \pm 0.05\%$ y $20 \pm 0.05\%$ en el espacio CIE L*A*B, comparandolo con la saturación del color en el textil del pigmento comercial de $56.73 \pm 0.95\%$.

A partir de estos resultados, se puede observar que los pigmentos microbianos no presentan una saturación en el textil elegido parecida o similar a la obtenida a partir de la tinción con pigmentos comerciales. Esto se debe a que la saturación es del doble en el caso de los pigmentos amarillos, el cuádruple en el caso de los pigmentos naranjas y hasta 6 veces en el caso de los pigmentos verdes obtenidos. Es evidente que el funcionamiento de los pigmentos microbianos no es comparable a los comerciales todavía al momento de ser aplicados en textiles. Esto se debe a que la mayoría de pigmentos comerciales son afines a solventes orgánicos, no solubles en agua como es el caso de los pigmentos obtenidos (Dufossé, 2016).

Por esta razón, la saturación es mucho menor, ya que la composición química del cual el textil esta fabricada y del pigmento es esencial al proceso de tinción. En general, es posible que el pigmento tenga mayor afinidad a telas sintéticas que a las de algodón. Debido a que en el textil probado (algodón), no presentó la mejor saturación, es posible que la moléculas de pigmento no sea capaz de formar un enlace de hidrógeno con el grupo hidroxilo de la molécula de celulosa. Considerando esto, es importante re evaluar el proceso de tinción utilizando diferentes mordantes y textiles, para propiciar la unión del textil probado con los pigmentos producidos. Para el efecto, se pueden utilizar compuestos con iones metálicos como sulfato de hierro o sulfato de cobre para así alterar la interacción entre la fibra y el pigmento, brindando mayor absorción y color. Además, se pueden probar diferentes condiciones de tinción, como aumento o decrecimiento de pH, cambios de temperatura, cambios de tiempos en la tinción, entre otras, para alterar las condiciones del pigmento y propiciar el proceso de teñido. Es importante evaluar en futuras investigaciones la duración de la tinción mediante ambos métodos, ya que este es un factor decisivo al momento de ser utilizado en la industria textil para producir vestuario en grandes cantidades (Dufossé, 2016; Metwally, *et al*, 2021).

Como se mencionó anteriormente, los colores de los pigmentos obtenidos son naranja, amarillo y verde, en donde el verde se obtiene a raíz de un cambio en la concentración de fosfatos de potasio

en el medio. En el caso de los pigmentos naranja y amarillo obtenidos, se cree que podrían ser carotenoides. Esto basado en el color del pigmento en sí y tras realizar mediciones de absorción a diferentes longitudes de onda (Ver Figuras de 40 al 63 y Cuadros 42 al 44). Se puede observar a partir de estas mediciones que las mayores absorbancias se encuentran en las longitudes de onda de entre 450 y 500 nm. Estas son las regiones en las cuales los carotenoides absorben, por lo que probablemente si sean. En cuanto al pigmento verde obtenido a concentraciones de fosfato de potasio de 0.5 y 1 g/L, se obtuvieron longitudes de onda a 600 nm. Correspondiente a un color de luz reflejado de verde, tal como lo menciona la teoría. Debido a que es un pigmento producido por la misma bacteria que también produce un pigmento amarillo, es posible que el pigmento sea un compuesto completamente diferente afectado por las condiciones mencionadas anteriormente. Esto es solo una posible hipótesis o suposición del tipo de pigmento producido ya que para poder caracterizar los mismos, es importante someter el mismo a una purificación exhaustiva y a diferentes técnicas analíticas (Khaneja, *et al*, 2019; Ahmad, *et al*, 2011; Padhan, 2021).

Para ello, se puede llevar a cabo una purificación de los pigmentos obtenidos mediante técnicas comunes, como cromatografía en columnas o cromatografía de capa fina, o técnicas innovadoras, como purificación con resinas poliméricas y de adsorción no iónica, para evaluar cual de las mencionadas anteriormente funcionan mejor con los pigmentos y maximizan la cantidad de producto final. Para determinar la mejor técnica de purificación a utilizar, se recomiendan verificar las estructuras formadas mediante microscopía electrónica para caracterizar los pigmentos obtenidos físicamente. Además, se deben de caracterizar los pigmentos obtenidos mediante ensayos biológicos y químicos. Dentro de los ensayos biológicos, se recomienda evaluar fotoestabilidad, fototoxicidad, antioxidantea, antimicrobiales, antifúngicas, anticancerígenas, entre otros; y dentro los químicos se recomienda analizar los mismos mediante cromatografía de líquidos de ultra desempeño (UPLC), detección de red de diodos, espectrometría de masa y de gases, espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FT-IR), resonancia magnética nuclear, entre otros. Una vez determinada la especie microbiana y el pigmento producido, se recomienda investigar las rutas metabólicas involucradas en la producción para poder aumentar el rendimiento mediante modificación de condiciones o mediante protocolos de modificación genética utilizando proteómica, metabolómica, genómica, metagenómica e ingeniería genética (Khaneja, *et al*, 2019; Ahmad, *et al*, 2011; Padhan, 2021).

Tras finalizar la experimentación, se determina que el método es repetible y reproducible. Esta es repetible, para individuos que tengan el acceso al mismo procedimiento, equipo, reactivos y condiciones utilizadas en este estudio. Además, se utilizaron equipos con un sistema de medición

confiables, siempre sujetas a incertidumbres de los mismos. Es reproducible para experimentadores que no tengan al alcance los mismos equipos, reactivos y condiciones, en donde se van a obtener resultados diferentes, más no drásticamente diferentes. Esto se puede observar en la dispersión de los resultados, indicado por las incertidumbres obtenidas, en donde son valores comparablemente menores a los obtenidos en los promedios de cada prueba. Esto también se puede observar en los bigotes de las gráficas de resultados obtenidas, en donde ninguna sobrepasa su longitud de los valores promedios graficados (Senar, 1999; Paisan y Moret, 2020).

Las mayores fuentes de error se obtuvieron a partir de las formulaciones de medios de cultivo y las mediciones de saturación. En cuanto a las formulaciones de medios de cultivo, se preparó cada uno para cada triplicado de manera individual, por lo que es posible que no se obtuviera la misma cantidad de reactivos utilizados, ya que a pesar de usar una balanza analítica, siempre el último valor es incierto abriendo la posibilidad de tener una concentración variable de nutrientes. Para el efecto, se recomienda calcular y realizar un batch de medio de cultivo una sola ocasión para los triplicados y así asegurarse que se tienen las mismas concentraciones para las tres. En cuanto a las mediciones de saturación, es posible que los porcentajes obtenidos para el espacio RGB contengan un error asociado debido a que se utilizaron tres instrumentos: una cámara, una lámpara y el software Adobe Photoshop. Cada uno, al contener su propia incertidumbre, aumentó el error, además que el método depende de la calidad de cada uno y de la condición de cuidado en el caso de la cámara y la lámpara, a pesar de haber utilizado las mismas condiciones para todas las mediciones. Al comparar los resultados de este espacio con el espacio CIE L*A*B, se puede observar que los porcentajes de saturación entre ambos son bastante cercanos, en donde la máxima diferencia es de 5%. Esto puede llegar a reducirse al realizar más mediciones en el espacio CIE L*A*B, ya que solo se realizó una medición, a diferencia de las 6 mediciones de saturación del color que se realizaron para el espacio RGB. Por esta razón, se recomienda utilizar solo un instrumento de medición, como lo es un colorímetro, no solo para disminuir el error asociado a la incertidumbre de varios instrumentos, sino también para utilizar un instrumento exclusivo para la medición de color.

Debido a que esta investigación es la fase inicial de producción de pigmentos, es necesario realizar varios pasos intermedios para poder analizar el proceso a nivel industrial. Es necesario aplicar todas las recomendaciones mencionadas anteriormente a nivel laboratorio y así poder determinar el proceso con mayor rendimiento de pigmentos producidos purificados con las bacterias utilizadas en este estudio. Tras determinar el mejor procedimiento a nivel laboratorio, es

necesario ir escalando el mismo progresivamente. Para el efecto, se puede continuar con una escala de 1 L utilizando un biorreactor como el modelo Sartorius Biostat Aplus, y posteriormente escalar a una fermentación de 10 L utilizando un biorreactor como el modelo New Brunswick Scientific Bioflo 415. Tras la evaluación del sistema en estas escalas, se puede continuar a armar una planta piloto de mayor volúmen e iniciar con la producción industrial de los pigmentos microbianos. Es importante recalcar que entre cada cambio de escala se debe de analizar la cinética del proceso y rendimientos de producción asociados al costo de producción tras el incremento de escala.

Finalmente, al producir los pigmentos, es importante hacer pruebas para su uso en otros procesos y productos además de textiles. Al probarlos en diferentes industrias, como la alimenticia por ejemplo, se puede evaluar su potencial como sustituto de los utilizados actualmente. Al tener una idea clara de la posible demanda que se podría tener con los pigmentos producidos dependiendo de la industria elegida, es recomendable analizar la viabilidad económica del proceso de producción de pigmentos (Ver Figura 67 en Anexos) mediante un estudio de mercado, estudio financiero y de viabilidad técnica y legal para poder comercializarlos a las diferentes industrias interesadas en utilizarlos.

IX. CONCLUSIONES

1. A partir del desarrollo de nueve diferentes medios de cultivo para el microorganismo A, se determinó que el crecimiento del microorganismo fue mayor para la concentración de sacarosa de 10 g/L, para la concentración de extracto de levadura de 3 g/L y que no representa diferencias en crecimiento variando concentraciones de fosfatos de potasio.
2. Se obtuvo la mayor producción de pigmento para el microorganismo A de 13.5 ± 3.0 mg/mL con la formulación de medio de cultivo compuesto por una concentración de sacarosa de 10 g/L, de extracto de levadura de 3 g/L y una concentración de fosfatos de potasio de 0.5 g/L.
3. A partir del desarrollo de nueve diferentes medios de cultivo para el microorganismo N, se determinó que el crecimiento del microorganismo fue mayor para la concentración de sacarosa de 10 g/L, para la concentración de extracto de levadura de 3 g/L y 1 g/L y que no representa diferencias en crecimiento variando concentraciones de fosfatos de potasio.
4. Se obtuvo la mayor producción de pigmento para el microorganismo N de 25.3 ± 5.0 mg/mL con la formulación de medio de cultivo compuesto por una concentración de sacarosa de 30 g/L, de extracto de levadura de 3 g/L y una concentración de fosfatos de potasio de 1 g/L.
5. A partir del desarrollo de nueve diferentes medios de cultivo para el microorganismo R, se determinó que el crecimiento del microorganismo fue mayor para la concentración de sacarosa de 20 y 30 g/L, para la concentración de extracto de levadura de 1 y 3 g/L y para la concentración de fosfatos de potasio de 1 y 1.5 g/L.
6. Se obtuvo la mayor producción de pigmento para el microorganismo R de 28.8 ± 3.3 mg/mL con la formulación de medio de cultivo compuesto por una concentración de sacarosa de 30 g/L, de extracto de levadura de 1 g/L y una concentración de fosfatos de potasio de 1.5 g/L.

7. A partir del microorganismo A se obtuvieron pigmentos amarillos con una saturación máxima en el textil de $25.52 \pm 0.17\%$ en el espacio RGB y a $20 \pm 0.05\%$ en el espacio CIE L*A*B, comparándolo con la saturación del comercial de $56.73 \pm 0.95\%$. En cuanto a los pigmentos verdes, se obtuvo saturación máxima de $15.75 \pm 0.63\%$ en el espacio RGB y de $17 \pm 0.05\%$ en el espacio CIE L*A*B, en comparación con la saturación del comercial de $93.17 \pm 0.29\%$, concluyendo que los pigmentos microbianos presentan una menor saturación en el textil a la obtenida a partir de los comerciales.
8. Se obtuvieron pigmentos naranjas a partir del microorganismo N con saturación máxima en el textil de $24.38 \pm 0.79\%$ en el espacio RGB y de $19 \pm 0.05\%$ en el espacio CIE L*A*B para los pigmentos microbianos, mientras que el comercial presentó una saturación de $93.58 \pm 0.46\%$, concluyendo que los pigmentos microbianos presentan una menor saturación en el textil a la obtenida a partir de los comerciales.
9. Se obtuvieron pigmentos de color amarillo a partir del microorganismo R, presentando una saturación máxima de $25.86 \pm 0.74\%$ en el espacio RGB y de $20 \pm 0.05\%$ en el espacio CIE L*A*B comparándolo con la saturación de color del comercial de $56.73 \pm 0.95\%$, concluyendo que los pigmentos microbianos presentan una menor saturación en el textil a la obtenida a partir de los comerciales.
10. Los pigmentos producidos con las cepas aisladas a las condiciones estudiadas presentan coloraciones amarillo y naranja en su mayoría y tienen una absorción máxima en un rango de longitud de onda de entre 450 y 500 nm.

X. RECOMENDACIONES

1. Evaluar el efecto de la variación de condiciones de crecimiento para cada cepa microbiana, en donde se podrían mencionar la temperatura, el pH, la presencia de luz, agitación, aereación y cambios en la concentración de otros reactivos vitales para el crecimiento microbiano como los más relevantes.
2. Se recomienda realizar una caracterización microscópica de los microorganismos aislados mediante diferentes tinciones, en especial la tinción Gram. Asimismo, realizar pruebas bioquímicas y evaluación de crecimiento en diferentes medios de cultivos para definir su capacidad de metabolizar ciertos compuestos.
3. Identificar molecularmente los microorganismos aislados mediante la amplificación y secuenciación de la región codificadora 16s rRNA tras llevar a cabo una extracción de ADN. Esto con el fin de comparar las secuencias obtenidas en bases de datos masivas, como la “Basic Local Allignment Search Tool” mejor conocida como BLAST, y poder identificar cada uno hasta especie.
4. Evaluar métodos de extracción alternativos a la extracción con solventes, como extracción asistida por ultrasonido (UAE), extracción asistida por microondas (MAE), extracción de líquido presurizado (PLE), extracción con fluidos supercríticos (SFE), extracción asistida por campo eléctrico (PFE) y extracción asistida por líquidos iónicos para elegir el que logre mayor rendimiento de extracción y mejor preservación de la composición de las moléculas de pigmento.
5. Verificar las estructuras formadas mediante microscopía electrónica para caracterizar los pigmentos obtenidos físicamente y poder determinar la mejor técnica de purificación de los mismos.

6. Purificar los pigmentos obtenidos mediante técnicas comunes, como cromatografía en columnas o cromatografía de capa fina, o técnicas innovadoras, como purificación con resinas poliméricas y de adsorción no iónica, para evaluar cual de las mencionadas anteriormente purifica con mayor eficiencia cada pigmento y maximiza la cantidad de producto final.
7. Caracterizar los pigmentos obtenidos mediante ensayos biológicos y químicos. Dentro de los ensayos biológicos, se recomienda evaluar fotoestabilidad, fototoxicidad, antioxidantea, antimicrobiales, antifúngicas, anticancerígenas, entre otros; y dentro los químicos se recomienda analizar los mismos mediante cromatografía de líquidos de ultra desempeño (UPLC), detección de red de diodos, espectrometría de masa y de gases, espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FT-IR), entre otros.
8. Una vez determinada la especie microbiana y el pigmento producido, se recomienda investigar las rutas metabólicas involucradas en la producción para poder aumentar el rendimiento mediante modificación de condiciones o mediante protocolos de modificación genética.
9. Se recomienda realizar una caracterización de posibles subproductos a lo largo de la fermentación para determinar si hay algún compuesto significativo que pueda ser utilizado o comercializado o para evaluar si algún subproducto podría estar afectando negativamente la producción y rendimiento de los pigmentos.
10. Realizar un estudio cinético de los diferentes microorganismos evaluados en los medios de cultivo que presentaron mayor producción de pigmentos para poder escalar de manera adecuada el proceso, procurando mantener las condiciones de las fermentaciones similares para evitar una disminución en el rendimiento.
11. Evaluar viabilidad económica del proceso de producción de pigmentos mediante un estudio de mercado, estudio financiero y de viabilidad técnica y legal para poder comercializarlos a las diferentes industrias interesadas en utilizarlos.

XI. BIBLIOGRAFÍA

Ahmad, W. A., Ahmad, W. Y. W., Zakaria, Z. A., & Yusof, N. Z. (2011). *Application of Bacterial Pigments as Colorant. Application of Bacterial Pigments as Colorant*, 57–74. DOI:10.1007/978-3-642-24520-6_4

Ahmad, W. A., Ahmad, W. Y. W., Zakaria, Z. A., & Yusof, N. Z. (2011). Isolation of Pigment-Producing Bacteria and Characterization of the Extracted Pigments. *Application of Bacterial Pigments as Colorant*, 25–44. doi:10.1007/978-3-642-24520-6_2

Alves, A., Forzani, M., Souza, R., Tadeu, S. y Goncalces, J. (2016). *Isolation and selection of plant growth- promoting bacteria associated with sugarcane. Pesq. Agropec. Trop.*, 46(2), p. 149–158.

Aranda, J.; Cabrera, A.; Chairez, J. (2008). Predicción Del Contenido Intracelular De Trehalosa En El Proceso De Producción De Biomasa De *Saccharomyces cerevisiae*. *Revista Mexicana De Ingeniería Química*, 7 (1): 71-78pp

Banerjee, D., Chatterjee, S., Banerjee, U. C., Guha, A. K., & Ray, L. (2011). Green Pigment from *Bacillus cereus* M1 16 (MTCC 5521): Production Parameters and Antibacterial Activity. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 164(6), 767–779. doi:10.1007/s12010-011-9172-8

Davis, G. y Song, J. H. (2006). Biodegradable packaging based on raw materials from crops and their impact on waste management. *Industrial Crops and Products*, 23(2), 147–161.

Dufossé, L. (2018). *Microbial Pigments From Bacteria, Yeasts, Fungi, and Microalgae for the Food and Feed Industries. Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes*, 113–132. doi:10.1016/b978-0-12-811518-3.00004-1

Ehrman, E. (2018). *Fashioned from nature*. (1era. ed.). V&A Publishing.

Hernández-Almanza, A., Cesar Montanez, J., Aguilar-González, M. A., Martínez-Ávila, C., Rodríguez-Herrera, R., & Aguilar, C. N. (2014). *Rhodotorula glutinis* as source of pigments and metabolites for food industry. *Food Bioscience*, 5, 64–72. doi:10.1016/j.fbio.2013.11.007

Hui, Y., Cornillon, P., Guerrero, I., Lim, M., Murrell, K. y Kit, W. (2004). *Handbook of Frozen Foods*. 1era. edición. Florida, Estados Unidos: CRC Press.

Issa, S., Alhajali, A. y Alamir, L. (2016). Improving carotenoid pigments production in *Rhodotorula mucilaginosa* using UV irradiation. *International Food Research Journal*, 23(2), 873-878.

Liu, M., Peng, F., Wang, Y., Zhang, K., Chen, G., and Fang, C. (2009). *Kineococcus xinjiangensis* sp. nov., isolated from desert sand. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 59, 1090–1093.

Masi, C., Duraipandi, V., Yuvaraj, Y., Vivek, O. y Parthasarathy, N. (2014). Production and Extraction of Bacterial Pigments from Novel Strains and Their Applications. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological, and Chemical Sciences*, 5(6), 584- 593.

Metwally, R. A., El Sikaily, A., El-Sersy, N. A., Ghozlan, H. A., & Sabry, S. A. (2021). *Antimicrobial activity of textile fabrics dyed with prodigiosin pigment extracted from marine Serratia rubidaea RAM_Alex bacteria*. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 47(3), 301–305.

Nakamura, Y., Asada, C., and Sawada, T. (2003). Production of antibacterial violet pigment by psychrotropic bacterium RT102 strain. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 8, 37–40.

Narsing Rao, M. P., Xiao, M., y Li, W.J. (2017). *Fungal and Bacterial Pigments: Secondary Metabolites with Wide Applications*. *Frontiers in Microbiology*, 8.

Navin, V. y Radha, T. (2015). Production of Extracellular Pigment From Microbes and its Application. *International Journal on Applied Bioengineering*, 9(2), 23- 29.

Negróni, M. (2009). *Microbiología estomatológica*. 2nda. edición. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.

Padhan, B., Poddar, K., Sarkar, D. y Sarkar, A. (2021). *Production, purification, and process optimization of intracellular pigment from novel psychrotolerant Paenibacillus sp. BPW19*.

Padhan, B., Poddar, K., Sarkar, D., & Sarkar, A. (2021). *Production, purification, and process optimization of intracellular pigment from novel psychrotolerant Paenibacillus sp. BPW19*. *Biotechnology Reports*, 29, e00592. doi:10.1016/j.btre.2021.e00592

Paisan, Y. y Moret, J. (2020). La repetibilidad y reproducibilidad en el aseguramiento de la calidad de los procesos de medición. *Tecnología Química*, 30(2), 117- 121.

Panesar, R., Kaur, S., and Panesar, P. S. (2015). Production of microbial pigments utilizing agro-industrial waste: a review. *Curr. Opin. Food. Sci.* 1, 70–76. DOI: 10.1016/j.cofs.2014.12.002

Pavia, D., Lampman, G., Kriz, G. y Engel, R. (2011). *A Small Scale Approach to Organic Laboratory Techniques*. 3era. Edición. California, Estados Unidos: Cengage Learning.

Peix, A., Berge, O., Rivas, R., Abril, A., and Velazquez, E. (2005). *Pseudomonas argentinensis* sp. nov., a novel yellow pigment-producing bacterial species, isolated from rhizospheric soil in Cordoba, Argentina. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55, 1107–1112. DOI: 10.1099/ijs.0.63445-0

Pumarola, A. (2009). *Microbiología y parasitología médica*. 6ta. edición. Philadelphia, Estados Unidos: Elsevier.

R. Khaneja, L. Perez-Fons, S. Fakhry, L. Baccigalupi, S. Steiger, E. To, G. Sandmann, T.C. Dong, E. Ricca, P.D. Fraser, S.M. Cutting. (2010). Carotenoids found in Bacillus. *Journal of Applied Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04590.x>

Reid, S. J., y Abratt, V. R. (2005). Sucrose utilisation in bacteria: genetic organisation and regulation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 67(3), 312–321. <https://doi.org/10.1007/S00253-004-1885-Y>.

Reynolds, J. (2019). Bacterial Colony Morphology. Extraído el 19 de agosto de 2021 de: https://bio.libretexts.org/Learning_Objects/Laboratory_Experiments/Microbiology_Labs/Microbiology_Labs_I/08%3A_Bacterial_Colony_Morphology

S. Pandiyarajan, P. Premasudha, and K. Kadirvelu (2018). Bio-production of novel water-soluble yellow pigment from *Aspergillus sp.* and exploring its sustainable textile applications. *Biotech*, 8(9). doi: [10.1007/s13205-018-1424-7](https://doi.org/10.1007/s13205-018-1424-7)

Sabbagh, P. y Ebrahimzadeh Namvar, A. (2017). The eminence status of bacterial pigments under different aspects. *Microbiologia Medica*, 32(4). DOI:10.4081/mm.2017.7247

Senar, J. (1999). La medición de la repetibilidad y el error de medida. *Etologia*, 17(1).

Tortora, G., Funke, B. y Case, C. (2007). *Introducción a la microbiología*. 9na. edición. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.

Turki M. Dawoud, Naiyf S. Alharbi, Aswani M. Theruvinthalakal, Aswani Thekkangil, Shine Kadaikunnan, Jamal M. Khaled, Taghreed N. Almanaa, Karthikumar Sankar, Ganesh Moorthy Innasimuthu, Khaled F Alanzi, Shyam Kumar Rajaram. (2020). Characterization and antifungal activity of the yellow pigment produced by a *Bacillus sp.* DBS4 isolated from the lichen *Dirinaria aegalita*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(5).

Usman, H., Abdulkadir, N., Gani, M. y Maiturare, H. (2017). Bacterial pigments and its significance. *MOJ Bioequiv Availab.*, 4(3), 285- 288.

Usman, H., Farouq, A., Baki, A., Abdulkadir, N. y Mustapha, G. (2018). Production and characterization of orange pigment produced by Halophilic bacterium *Salinococcus roseus* isolated from Abattoir soil. *J. Microbiol Exp.*, 6(6), 238- 243.

Vélez, D.; Rodríguez, P.; Estrada, G. y Pérez, J. (2005). Aplicaciones Industriales de la Microbiología. Cali, Colombia. pp 103.

Venil, C. K., Zakaria, Z. A., & Ahmad, W. A. (2013). Bacterial pigments and their applications. *Process Biochemistry*, 48(7), 1065–1079. DOI:10.1016/j.procbio.2013.06.006

Zhu, H. H., Guo, J., Yao, Q., Yang, S. Z., Deng, M. R., Phuong le, T. B., et al. (2007). *Streptomyces vietnamensis* sp. nov., a streptomycete with violet blue diffusible pigment isolated from soil in Vietnam. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57, 1770–1774. DOI: 10.1099/ijs.0.64774-0

XII. ANEXOS

A. Datos originales

Cuadro 11: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo N variando la concentración de sacarosa.

| T (± 0.5 min) | Concentración de sacarosa | | |
|--------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | 10 g/L | 20 g/L | 30 g/L |
| | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0.0034 | 0.0858 | 0.198 |
| 70 | 0.0081 | 0.1089 | 0.005 |
| 135 | 0.0968 | 0.132 | 0.0607 |
| 200 | 0.4009 | 0.2422 | 0.3291 |
| 266 | 0.8169 | 0.2715 | 0.7228 |
| 366 | 1.0457 | 0.7664 | 1.0114 |
| 515 | 1.1527 | 0.8864 | 1.1858 |
| 581 | 1.2363 | 0.9965 | 1.2704 |
| 1415 | 1.3993 | 1.3091 | 1.4152 |
| 1535 | 1.4185 | 1.3307 | 1.5188 |
| 1650 | 1.4603 | 1.3079 | 1.4625 |
| 1805 | 1.3947 | 1.1006 | 1.5513 |
| 1873 | 1.6466 | 1.5333 | 1.4545 |
| 2000 | 1.6133 | 1.3542 | 1.5109 |
| 2100 | 1.626 | 1.3595 | 1.549 |
| 5030 | 1.637 | 1.4368 | 1.5873 |
| 5224 | 1.6427 | 1.4677 | 1.6572 |
| 6590 | 1.5791 | 1.4548 | 1.5444 |
| 8220 | 1.356 | 1.394 | 1.4983 |

Fuente: Elaboración propia.

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 12: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo N variando la concentración de extracto de levadura.

| T (±0.5 min) | Concentración de extracto de levadura | | |
|--------------|---------------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | 1 g/L | 2 g/L | 3 g/L |
| | OD (±3x10 ⁻³) | OD (±3x10 ⁻³) | OD (±3x10 ⁻³) |
| 0 | 0.0019 | 0.0027 | 0.0039 |
| 51 | 0.0079 | 0.0096 | 0.0092 |
| 111 | 0.0354 | 0.0403 | 0.037 |
| 171 | 0.0631 | 0.0713 | 0.0673 |
| 1336 | 1.3632 | 1.3912 | 1.436 |
| 1391 | 1.3805 | 1.4143 | 1.4808 |
| 1451 | 1.4147 | 1.4138 | 1.4943 |
| 1506 | 1.4309 | 1.5056 | 1.5253 |
| 1561 | 1.5116 | 1.523 | 1.5282 |
| 2751 | 1.6752 | 1.6265 | 1.7136 |
| 2811 | 1.7135 | 1.6364 | 1.7356 |
| 2871 | 1.6903 | 1.6349 | 1.6954 |
| 2931 | 1.7072 | 1.6726 | 1.634 |
| 2991 | 1.5787 | 1.5541 | 1.6877 |
| 8558 | 0.6766 | 0.6587 | 0.6615 |
| 8831 | 0.6534 | 0.6437 | 0.6536 |
| 9985 | 0.6556 | 0.6619 | 0.6586 |

Fuente: Elaboración propia.

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 13: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo N variando la concentración de fosfato de potasio monobásico.

| T (± 0.5 min) | Concentración de fosfato de potasio | | |
|--------------------|-------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | 0.5 g/L | 1 g/L | 1.5 g/L |
| | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0.0149 | 0.0128 | 0.0167 |
| 92 | 0.0663 | 0.0698 | 0.0492 |
| 73 | 0.3352 | 0.2966 | 0.2379 |
| 93 | 0.4526 | 0.4144 | 0.3586 |
| 233 | 0.6025 | 0.6083 | 0.6093 |
| 1088 | 0.6605 | 0.6656 | 0.6366 |
| 1188 | 0.6569 | 0.6539 | 0.6356 |
| 1248 | 0.6545 | 0.6552 | 0.6245 |
| 1338 | 0.6589 | 0.6548 | 0.6387 |
| 1433 | 0.66 | 0.6552 | 0.6355 |
| 1483 | 0.6605 | 0.656 | 0.6387 |
| 2548 | 0.6637 | 0.6592 | 0.6466 |
| 2903 | 0.6669 | 0.6615 | 0.6483 |
| 4328 | 0.666 | 0.6736 | 0.6727 |
| 4553 | 0.6602 | 0.671 | 0.6708 |
| 6080 | 0.6394 | 0.6659 | 0.666 |
| 6395 | 0.6843 | 0.671 | 0.6672 |

Fuente: Elaboración propia.

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 14: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo A variando la concentración de sacarosa.

| T (± 0.5 min) | Concentración de sacarosa | | |
|--------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | 10 g/L | 20 g/L | 30 g/L |
| | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0.0382 | 0.1448 | 0.0786 |
| 70 | 0.0197 | 0.0651 | 0.0591 |
| 135 | 0.1298 | 0.178 | 0.1371 |
| 200 | 0.4036 | 0.2164 | 0.386 |
| 266 | 0.771 | 0.5101 | 0.7645 |
| 366 | 1.0264 | 0.8304 | 1.114 |
| 515 | 1.307 | 1.045 | 1.2926 |
| 581 | 1.4354 | 1.2242 | 1.4198 |
| 1415 | 1.4545 | 1.3839 | 1.4972 |
| 1535 | 1.4302 | 1.3956 | 1.5314 |
| 1650 | 1.4316 | 1.3383 | 1.5419 |
| 1805 | 1.4939 | 1.3217 | 1.4291 |
| 1873 | 1.5942 | 1.4749 | 1.571 |
| 2000 | 1.5986 | 1.4509 | 1.5033 |
| 2100 | 1.6233 | 1.4193 | 1.4677 |
| 5030 | 1.6888 | 1.5685 | 1.6161 |
| 5224 | 1.7964 | 1.6765 | 1.6895 |
| 6590 | 1.5488 | 1.5686 | 1.6654 |
| 8220 | 1.4094 | 1.5624 | 1.494 |

Fuente: Elaboración propia.

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 15: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo A variando la concentración de extracto de levadura.

| T (± 0.5 min) | Concentración de extracto de levadura | | |
|--------------------|---------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | 1 g/L | 2 g/L | 3 g/L |
| | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0.0006 | 0.0028 | 0.0009 |
| 45 | 0.0123 | 0.0176 | 0.015 |
| 105 | 0.0645 | 0.0823 | 0.0704 |
| 165 | 0.165 | 0.1857 | 0.1884 |
| 1330 | 0.933 | 0.9073 | 1.0109 |
| 1385 | 0.9281 | 0.9265 | 1.0081 |
| 1445 | 0.9425 | 0.9313 | 1.0319 |
| 1500 | 0.9612 | 0.9567 | 1.0342 |
| 1555 | 0.9733 | 0.9683 | 1.0657 |
| 2745 | 1.0847 | 1.08 | 1.1869 |
| 2805 | 1.1 | 1.1343 | 1.1948 |
| 2865 | 1.1292 | 1.1365 | 1.198 |
| 2925 | 1.1083 | 1.1354 | 1.2081 |
| 2985 | 1.1059 | 1.1199 | 1.2042 |
| 8552 | 1.5084 | 1.4656 | 1.6451 |
| 8825 | 0.6359 | 0.5941 | 0.6514 |
| 9979 | 0.6443 | 0.6118 | 0.6613 |

Fuente: Elaboración propia.

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 16: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo A variando la concentración de fosfato de potasio monobásico.

| T (± 0.5 min) | Concentración de fosfato de potasio | | |
|--------------------|-------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | 0.5 g/L | 1 g/L | 1.5 g/L |
| | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0 | 0 | 0.0009 |
| 92 | 0.0769 | 0.0665 | 0.0803 |
| 73 | 0.3193 | 0.3164 | 0.3143 |
| 93 | 0.446 | 0.4386 | 0.4509 |
| 233 | 0.5909 | 0.6361 | 0.6278 |
| 1088 | 0.6587 | 0.6605 | 0.6526 |
| 1188 | 0.6569 | 0.6595 | 0.6592 |
| 1248 | 0.6593 | 0.6543 | 0.656 |
| 1338 | 0.6572 | 0.6615 | 0.6567 |
| 1433 | 0.6613 | 0.6644 | 0.6564 |
| 1483 | 0.6629 | 0.6675 | 0.6582 |
| 2548 | 0.6658 | 0.6702 | 0.6722 |
| 2903 | 0.6715 | 0.6722 | 0.6742 |
| 4328 | 0.6718 | 0.6742 | 0.6742 |
| 4553 | 0.6698 | 0.6738 | 0.6712 |
| 6080 | 0.6637 | 0.6628 | 0.6691 |
| 6395 | 0.6766 | 0.6327 | 0.6776 |

Fuente: Elaboración propia.

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 17: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo R variando la concentración de sacarosa.

| T (± 0.5 min) | Concentración de sacarosa | | |
|--------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | 10 g/L | 20 g/L | 30 g/L |
| | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0.0292 | 0.0326 | 0.0802 |
| 84 | 0.0475 | 0.0242 | 0.0385 |
| 251 | 0.3832 | 0.3787 | 0.4617 |
| 334 | 0.6274 | 0.583 | 0.6146 |
| 394 | 0.688 | 0.6373 | 0.6781 |
| 459 | 0.7311 | 0.7135 | 0.7751 |
| 519 | 0.7991 | 0.8639 | 0.8408 |
| 1074 | 0.9244 | 0.8963 | 0.9329 |
| 1309 | 1.0336 | 1.0269 | 1.0271 |
| 1429 | 1.103 | 1.0859 | 1.0651 |
| 1564 | 1.064 | 1.1246 | 0.9371 |
| 1701 | 1.1558 | 1.2642 | 1.2506 |
| 2545 | 1.434 | 1.5841 | 1.4434 |
| 2619 | 1.4751 | 1.7258 | 1.4559 |
| 2684 | 1.4454 | 1.604 | 1.631 |
| 2910 | 1.4227 | 1.6064 | 1.6791 |
| 4010 | 1.5125 | 1.6271 | 1.6147 |
| 4072 | 1.726 | 1.7771 | 1.7032 |

Fuente: Elaboración propia.

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 18: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo R variando la concentración de extracto de levadura.

| T (± 0.5 min) | Concentración de extracto de levadura | | |
|--------------------|---------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | 1 g/L | 2 g/L | 3 g/L |
| | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0.002 | 0.005 | 0.0033 |
| 62 | 0.005 | 0.0062 | 0.0066 |
| 152 | 0.0345 | 0.0333 | 0.0468 |
| 237 | 0.1832 | 0.1693 | 0.2203 |
| 1356 | 0.6234 | 0.6194 | 0.6389 |
| 1412 | 0.6251 | 0.6194 | 0.6405 |
| 1469 | 0.6278 | 0.6205 | 0.6392 |
| 1527 | 0.632 | 0.6276 | 0.6398 |
| 1580 | 0.6299 | 0.6178 | 0.6345 |
| 2782 | 0.6554 | 0.6204 | 0.6464 |
| 2847 | 0.6548 | 0.6208 | 0.6625 |
| 2897 | 0.6572 | 0.6201 | 0.6604 |
| 2952 | 0.6522 | 0.6182 | 0.661 |
| 2992 | 0.6615 | 0.6138 | 0.6589 |
| 8722 | 0.6644 | 0.6514 | 0.6719 |
| 8807 | 0.663 | 0.6567 | 0.6576 |
| 8897 | 0.6047 | 0.652 | 0.6426 |

Fuente: Elaboración propia.

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 19: Valores de densidad óptica a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo R variando la concentración de fosfato de potasio monobásico.

| T (± 0.5 min) | Concentración de fosfato de potasio | | |
|--------------------|-------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | 0.5 g/L | 1 g/L | 1.5 g/L |
| | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0 | 0.001 | 0.001 |
| 122 | 0.001 | 0.006 | 0.004 |
| 257 | 0.004 | 0.017 | 0.008 |
| 400 | 0.008 | 0.027 | 0.12 |
| 482 | 0.10885 | 0.1975 | 0.1793 |
| 607 | 0.4033 | 0.3756 | 0.4287 |
| 1457 | 0.5374 | 0.5295 | 0.5684 |
| 1532 | 0.5349 | 0.5398 | 0.5548 |
| 1652 | 0.549 | 0.549 | 0.5603 |
| 1802 | 0.5623 | 0.5659 | 0.5639 |
| 1897 | 0.5674 | 0.5748 | 0.5678 |
| 1967 | 0.5715 | 0.5925 | 0.5623 |
| 2927 | 0.5804 | 0.6133 | 0.5964 |
| 3257 | 0.584 | 0.6183 | 0.6063 |
| 7427 | 0.6019 | 0.6597 | 0.6652 |
| 8852 | 0.5876 | 0.604 | 0.6157 |
| 9992 | 0.521 | 0.5468 | 0.5549 |

Fuente: Elaboración propia.

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 20: Peso del contenedor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo N variando concentración de sacarosa.

| Triplicado | Concentración de sacarosa (g/L) | Contenedor + pigmento ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) |
|------------|---------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1 | 10 | 11.567 | 11.454 |
| | 20 | 11.531 | 11.425 |
| | 30 | 11.677 | 11.432 |
| 2 | 10 | 9.718 | 9.628 |
| | 20 | 9.332 | 9.236 |
| | 30 | 9.407 | 9.321 |
| 3 | 10 | 11.527 | 11.419 |
| | 20 | 4.281 | 4.132 |
| | 30 | 4.297 | 4.121 |

Fuente: Elaboración propia.

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 21: Peso del contenedor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo N variando concentración de extracto de levadura.

| Triplicado | Concentración de extracto de levadura (g/L) | Contenedor + pigmento ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) |
|------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1 | 1.0 | 10.390 | 10.193 |
| | 2.0 | 11.679 | 11.457 |
| | 3.0 | 11.772 | 11.553 |
| 2 | 1.0 | 11.754 | 11.422 |
| | 2.0 | 9.689 | 9.318 |
| | 3.0 | 11.803 | 11.453 |
| 3 | 1.0 | 9.808 | 9.672 |
| | 2.0 | 11.660 | 11.474 |
| | 3.0 | 9.774 | 9.578 |

Fuente: Elaboración propia.

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 22: Peso del contenedor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo N variando concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Triplicado | Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Contenedor + pigmento ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) |
|------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1 | 0.5 | 9.845 | 9.752 |
| | 1.0 | 121.121 | 120.729 |
| | 1.5 | 9.733 | 9.645 |
| 2 | 0.5 | 9.816 | 9.705 |
| | 1.0 | 9.899 | 9.803 |
| | 1.5 | 9.791 | 9.690 |
| 3 | 0.5 | 4.241 | 4.132 |
| | 1.0 | 10.537 | 10.267 |
| | 1.5 | 10.062 | 9.867 |

Fuente: Elaboración propia.

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 23: Peso del contendor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo A variando concentración de sacarosa.

| Triplicado | Concentración de sacarosa (g/L) | Contenedor + pigmento ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) |
|------------|---------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1 | 10 | 9.777 | 9.613 |
| | 20 | 11.630 | 11.548 |
| | 30 | 10.345 | 10.276 |
| 2 | 10 | 11.665 | 11.564 |
| | 20 | 11.625 | 11.549 |
| | 30 | 9.721 | 9.615 |
| 3 | 10 | 6.821 | 6.692 |
| | 20 | 7.089 | 6.903 |
| | 30 | 7.087 | 6.989 |

Fuente: Elaboración propia.

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 24: Peso del contendor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo A variando concentración de extracto de levadura.

| Triplicado | Concentración de extracto de levadura (g/L) | Contenedor + pigmento ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) |
|------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1 | 1.0 | 11.536 | 11.440 |
| | 2.0 | 10.222 | 10.134 |
| | 3.0 | 11.545 | 11.418 |
| 2 | 1.0 | 9.788 | 9.631 |
| | 2.0 | 11.692 | 11.548 |
| | 3.0 | 9.227 | 9.088 |
| 3 | 1.0 | 9.892 | 9.754 |
| | 2.0 | 9.836 | 9.691 |
| | 3.0 | 9.772 | 9.634 |

Fuente: Elaboración propia.

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 25: Peso del contenedor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo A variando concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Triplicado | Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Contenedor + pigmento ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) |
|------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1 | 0.5 | 110.739 | 110.574 |
| | 1.0 | 9.943 | 9.896 |
| | 1.5 | 86.083 | 85.949 |
| 2 | 0.5 | 92.387 | 92.254 |
| | 1.0 | 10.194 | 10.112 |
| | 1.5 | 10.636 | 10.557 |
| 3 | 0.5 | 10.213 | 10.107 |
| | 1.0 | 9.578 | 9.459 |
| | 1.5 | 9.707 | 9.622 |

Fuente: Elaboración propia.

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 26: Peso del contenedor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo R variando concentración de sacarosa.

| Triplicado | Concentración de sacarosa (g/L) | Contenedor + pigmento ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) |
|------------|---------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1 | 10 | 10.152 | 10.102 |
| | 20 | 10.265 | 10.224 |
| | 30 | 9.449 | 9.385 |
| 2 | 10 | 10.200 | 10.136 |
| | 20 | 11.644 | 11.550 |
| | 30 | 9.356 | 9.257 |
| 3 | 10 | 4.212 | 4.099 |
| | 20 | 4.250 | 4.126 |
| | 30 | 4.006 | 3.861 |

Fuente: Elaboración propia.

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 27: Peso del contenedor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo R variando extracto de levadura.

| Triplicado | Concentración de extracto de levadura (g/L) | Contenedor + pigmento ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) |
|------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1 | 1.0 | 9.711 | 9.318 |
| | 2.0 | 10.292 | 10.104 |
| | 3.0 | 9.218 | 9.084 |
| 2 | 1.0 | 7.123 | 6.753 |
| | 2.0 | 4.374 | 4.151 |
| | 3.0 | 6.877 | 6.743 |
| 3 | 1.0 | 11.922 | 11.552 |
| | 2.0 | 10.487 | 10.202 |
| | 3.0 | 9.713 | 9.615 |

Fuente: Elaboración propia.

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 28: Peso del contenedor con pigmento y del contenedor para la obtención del valor de pigmento producido por el microorganismo R variando concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Triplicado | Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Contenedor + pigmento ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) |
|------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1 | 0.5 | 9.439 | 9.263 |
| | 1.0 | 11.824 | 11.555 |
| | 1.5 | 9.560 | 9.135 |
| 2 | 0.5 | 31.358 | 31.164 |
| | 1.0 | 9.953 | 9.718 |
| | 1.5 | 11.804 | 11.428 |
| 3 | 0.5 | 11.582 | 11.438 |
| | 1.0 | 9.476 | 9.174 |
| | 1.5 | 29.650 | 29.288 |

Fuente: Elaboración propia.

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 29: Peso del contenedor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo N variando concentración de sacarosa.

| Triplicado | Concentración de sacarosa (g/L) | Contenedor + biomasa ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) |
|------------|---------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1 | 10 | 10.633 | 10.606 |
| | 20 | 9.777 | 9.662 |
| | 30 | 10.456 | 10.240 |
| 2 | 10 | 11.657 | 11.457 |
| | 20 | 10.354 | 10.102 |
| | 30 | 11.548 | 11.418 |
| 3 | 10 | 10.175 | 10.081 |
| | 20 | 9.617 | 9.497 |
| | 30 | 10.306 | 10.249 |

Fuente: Elaboración propia.

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 30: Peso del contenedor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo N variando concentración de extracto de levadura.

| Triplicado | Concentración de extracto de levadura (g/L) | Contenedor + biomasa ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) |
|------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1 | 1.0 | 9.413 | 9.182 |
| | 2.0 | 11.825 | 11.572 |
| | 3.0 | 11.533 | 11.424 |
| 2 | 1.0 | 10.291 | 10.106 |
| | 2.0 | 10.407 | 10.218 |
| | 3.0 | 9.713 | 9.656 |
| 3 | 1.0 | 10.421 | 10.217 |
| | 2.0 | 9.460 | 9.232 |
| | 3.0 | 18.132 | 18.102 |

Fuente: Elaboración propia.

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 31: Peso del contenedor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo N variando concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Triplicado | Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Contenedor + biomasa ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) |
|------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1 | 0.5 | 10.154 | 9.761 |
| | 1.0 | 10.106 | 9.672 |
| | 1.5 | 10.382 | 9.893 |
| 2 | 0.5 | 9.976 | 9.652 |
| | 1.0 | 10.833 | 10.441 |
| | 1.5 | 10.237 | 9.655 |
| 3 | 0.5 | 10.050 | 9.616 |
| | 1.0 | 12.353 | 11.948 |
| | 1.5 | 10.209 | 9.647 |

Fuente: Elaboración propia.

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 32: Peso del contenedor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo A variando concentración de sacarosa.

| Triplicado | Concentración de sacarosa (g/L) | Contenedor + biomasa ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) |
|------------|---------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1 | 10 | 9.821 | 9.756 |
| | 20 | 9.865 | 9.743 |
| | 30 | 9.830 | 9.672 |
| 2 | 10 | 11.641 | 11.546 |
| | 20 | 9.289 | 9.088 |
| | 30 | 10.565 | 10.262 |
| 3 | 10 | 9.245 | 9.226 |
| | 20 | 18.273 | 18.100 |
| | 30 | 10.782 | 10.557 |

Fuente: Elaboración propia.

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 33: Peso del contenedor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo A variando concentración de extracto de levadura.

| Triplicado | Concentración de extracto de levadura (g/L) | Contenedor + biomasa ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) |
|------------|---------------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1 | 1.0 | 9.762 | 9.655 |
| | 2.0 | 9.263 | 9.143 |
| | 3.0 | 9.461 | 9.314 |
| 2 | 1.0 | 11.523 | 11.460 |
| | 2.0 | 9.306 | 9.255 |
| | 3.0 | 11.454 | 11.421 |
| 3 | 1.0 | 10.978 | 10.876 |
| | 2.0 | 11.525 | 11.407 |
| | 3.0 | 9.644 | 9.612 |

Fuente: Elaboración propia.

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 34: Peso del contenedor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo A variando concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Triplicado | Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Contenedor + biomasa ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) |
|------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1 | 0.5 | 9.948 | 9.859 |
| | 1.0 | 10.820 | 10.524 |
| | 1.5 | 9.919 | 9.731 |
| 2 | 0.5 | 11.580 | 11.449 |
| | 1.0 | 9.877 | 9.630 |
| | 1.5 | 10.498 | 10.233 |
| 3 | 0.5 | 9.306 | 9.231 |
| | 1.0 | 11.762 | 11.562 |
| | 1.5 | 11.230 | 10.986 |

Fuente: Elaboración propia.

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 35: Peso del contenedor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo R variando concentración de sacarosa.

| Triplicado | Concentración de sacarosa (g/L) | Contenedor + biomasa ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) |
|------------|---------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1 | 10 | 9.880 | 9.841 |
| | 20 | 10.336 | 10.289 |
| | 30 | 9.852 | 9.729 |
| 2 | 10 | 9.768 | 9.663 |
| | 20 | 10.260 | 10.208 |
| | 30 | 11.559 | 11.421 |
| 3 | 10 | 11.048 | 10.987 |
| | 20 | 11.429 | 11.396 |
| | 30 | 9.231 | 9.103 |

Fuente: Elaboración propia.

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 36: Peso del contenedor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo R variando concentración de extracto de levadura.

| Triplicado | Concentración de extracto de levadura (g/L) | Contenedor + biomasa ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4} g$) |
|------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1 | 1.0 | 121.465 | 120.870 |
| | 2.0 | 9.981 | 9.651 |
| | 3.0 | 18.119 | 18.069 |
| 2 | 1.0 | 10.817 | 10.265 |
| | 2.0 | 9.837 | 9.570 |
| | 3.0 | 9.841 | 9.763 |
| 3 | 1.0 | 11.061 | 10.499 |
| | 2.0 | 10.311 | 10.106 |
| | 3.0 | 9.055 | 8.954 |

Fuente: Elaboración propia.

* Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 37: Peso del contenedor con biomasa y del contenedor para la obtención del valor de biomasa del microorganismo R variando concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Triplicado | Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Contenedor + biomasa ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) | Contenedor ($\pm 5 \times 10^{-4}$ g) |
|------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------|
| 1 | 0.5 | 9.765 | 9.540 |
| | 1.0 | 111.417 | 110.662 |
| | 1.5 | 31.597 | 30.801 |
| 2 | 0.5 | 9.445 | 9.245 |
| | 1.0 | 93.008 | 92.342 |
| | 1.5 | 11.025 | 10.232 |
| 3 | 0.5 | 9.925 | 9.839 |
| | 1.0 | 10.383 | 9.735 |
| | 1.5 | 12.273 | 11.461 |

Fuente: Elaboración propia.

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 38: Luminosidad y colores primarios de la luz para determinar la saturación del color de textiles teñidos con pigmentos obtenidos de microorganismo N obtenidos a partir de histogramas de Adobe Photoshop.

| Muestra | Luminosidad ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Rojo ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Verde ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Azul ($\pm 5 \times 10^{-3}$) |
|---------|-------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| 1 | 135.86 | 148.78 | 135.47 | 103.76 |
| | 135.98 | 150.09 | 135.01 | 104.15 |
| | 134.99 | 148.82 | 134.02 | 103.72 |
| | 134.97 | 149.82 | 134.98 | 103.98 |
| | 135.58 | 149.56 | 135.32 | 104.03 |
| | 135.42 | 150.01 | 135.98 | 103.65 |
| 2 | 179.24 | 199.08 | 178.44 | 130.60 |
| | 180.94 | 203.66 | 178.97 | 129.70 |
| | 178.44 | 200.83 | 176.68 | 127.33 |
| | 179.34 | 201.98 | 177.45 | 128.12 |
| | 180.02 | 201.45 | 178.90 | 127.94 |
| | 178.42 | 202.21 | 177.02 | 129.07 |
| 3 | 158.79 | 175.53 | 157.15 | 122.96 |
| | 166.74 | 182.28 | 165.83 | 130.48 |
| | 158.50 | 174.70 | 157.05 | 123.21 |
| | 164.01 | 180.14 | 162.95 | 127.04 |
| | 163.21 | 176.98 | 160.84 | 126.49 |
| | 162.58 | 177.32 | 160.58 | 125.28 |
| 4 | 121.18 | 135.78 | 119.92 | 89.11 |
| | 127.46 | 143.81 | 125.75 | 93.82 |
| | 122.98 | 140.56 | 120.94 | 90.42 |
| | 124.91 | 142.34 | 122.12 | 91.03 |
| | 126.19 | 136.92 | 120.31 | 92.72 |
| | 125.79 | 137.98 | 121.73 | 93.07 |
| 5 | 144.32 | 157.75 | 143.49 | 114.30 |
| | 148.09 | 165.46 | 145.99 | 113.68 |
| | 145.87 | 160.98 | 145.23 | 113.01 |

| Muestra | Luminosidad ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Rojo ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Verde ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Azul ($\pm 5 \times 10^{-3}$) |
|---------|-------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| | 145.79 | 161.49 | 146.01 | 114.72 |
| | 147.23 | 162.31 | 143.52 | 113.92 |
| | 145.36 | 158.93 | 144.87 | 114.06 |
| | 202.19 | 217.13 | 202.11 | 162.94 |
| | 195.24 | 211.29 | 194.70 | 155.64 |
| 6 | 199.68 | 213.38 | 201.07 | 157.29 |
| | 196.75 | 213.69 | 198.54 | 159.35 |
| | 197.05 | 214.70 | 200.85 | 160.59 |
| | 197.04 | 215.63 | 197.36 | 159.12 |
| | 190.31 | 207.53 | 188.79 | 153.91 |
| | 195.35 | 211.34 | 193.99 | 160.04 |
| 7 | 194.05 | 209.56 | 193.06 | 156.63 |
| | 193.16 | 208.18 | 190.76 | 158.24 |
| | 192.54 | 209.04 | 191.41 | 156.61 |
| | 193.20 | 208.42 | 189.64 | 154.23 |
| | 199.26 | 210.26 | 198.90 | 171.45 |
| | 195.72 | 208.60 | 194.72 | 167.78 |
| 8 | 198.43 | 209.49 | 195.44 | 171.35 |
| | 197.07 | 209.17 | 196.37 | 168.74 |
| | 195.78 | 210.11 | 195.74 | 167.98 |
| | 197.51 | 209.72 | 198.39 | 169.25 |
| | 111.38 | 130.77 | 108.85 | 71.94 |
| | 118.76 | 138.69 | 116.44 | 78.33 |
| 9 | 114.02 | 134.68 | 109.92 | 76.00 |
| | 116.75 | 131.13 | 116.17 | 75.61 |
| | 115.63 | 138.34 | 113.32 | 76.60 |
| | 112.73 | 134.94 | 109.05 | 76.81 |

Fuente: Elaboración propia.

*Los pigmentos obtenidos y catalogados de 1 al 9 obtenidos del microorganismo N se pueden observar en la Figura 33 en Anexos y los textiles teñidos con los mismos en la Figura 36 en Anexos.

Cuadro 39: Luminosidad y colores primarios de la luz para determinar la saturación del color de textiles teñidos con pigmentos obtenidos de microorganismo R obtenidos a partir de histogramas de Adobe Photoshop.

| Muestra | Luminosidad ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Rojo ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Verde ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Azul ($\pm 5 \times 10^{-3}$) |
|---------|-------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| 10 | 139.76 | 153.71 | 140.53 | 98.17 |
| | 146.44 | 161.69 | 146.32 | 104.77 |
| | 141.75 | 161.41 | 143.81 | 101.35 |
| | 143.00 | 157.04 | 140.97 | 102.14 |
| | 146.21 | 160.10 | 143.01 | 101.53 |
| | 142.08 | 160.91 | 140.91 | 100.76 |
| 11 | 145.80 | 153.55 | 147.07 | 116.93 |
| | 147.37 | 155.39 | 148.32 | 120.59 |
| | 146.25 | 154.50 | 148.17 | 118.00 |
| | 146.57 | 154.31 | 147.91 | 118.92 |
| | 147.05 | 153.67 | 147.96 | 117.12 |
| | 146.41 | 154.90 | 148.10 | 117.30 |
| 12 | 132.28 | 141.99 | 131.57 | 110.20 |
| | 127.12 | 134.76 | 126.81 | 108.05 |
| | 128.93 | 138.31 | 131.32 | 108.70 |
| | 130.54 | 137.77 | 128.96 | 109.29 |
| | 130.91 | 139.38 | 126.84 | 109.59 |
| | 127.73 | 140.60 | 126.96 | 108.73 |
| 13 | 123.38 | 136.88 | 122.47 | 90.37 |
| | 123.10 | 135.03 | 122.03 | 97.63 |
| | 123.13 | 135.48 | 122.35 | 90.41 |
| | 123.31 | 135.25 | 122.34 | 93.76 |
| | 123.24 | 135.10 | 122.10 | 95.59 |
| | 123.11 | 135.14 | 122.41 | 90.84 |
| 14 | 121.94 | 131.22 | 120.43 | 104.23 |
| | 118.01 | 127.48 | 116.68 | 100.25 |
| | 119.99 | 130.17 | 119.99 | 104.09 |

| Muestra | Luminosidad ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Rojo ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Verde ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Azul ($\pm 5 \times 10^{-3}$) |
|---------|-------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| | 118.03 | 129.74 | 119.25 | 101.49 |
| | 118.38 | 130.68 | 117.23 | 103.26 |
| | 118.21 | 130.49 | 117.56 | 102.39 |
| | 124.26 | 136.05 | 123.21 | 99.35 |
| | 124.72 | 137.05 | 123.63 | 97.27 |
| 15 | 124.50 | 136.22 | 123.62 | 97.97 |
| | 124.41 | 136.64 | 123.25 | 98.06 |
| | 124.32 | 136.54 | 123.57 | 97.60 |
| | 124.63 | 136.67 | 123.51 | 98.44 |
| | 173.91 | 194.49 | 173.13 | 122.44 |
| | 173.65 | 193.93 | 172.90 | 122.60 |
| 16 | 173.71 | 194.37 | 172.90 | 122.46 |
| | 173.76 | 193.98 | 172.99 | 122.54 |
| | 173.76 | 194.02 | 173.05 | 122.48 |
| | 173.86 | 194.16 | 173.01 | 122.48 |
| | 185.30 | 201.02 | 186.78 | 133.89 |
| | 184.20 | 198.70 | 185.90 | 135.11 |
| 17 | 185.00 | 198.79 | 186.27 | 134.85 |
| | 184.50 | 200.91 | 185.92 | 134.87 |
| | 184.59 | 198.77 | 185.92 | 134.89 |
| | 184.45 | 200.42 | 186.05 | 134.10 |
| | 185.08 | 205.43 | 181.32 | 150.16 |
| | 185.39 | 205.03 | 182.00 | 150.36 |
| 18 | 185.38 | 205.42 | 181.79 | 150.20 |
| | 185.32 | 205.03 | 181.45 | 150.25 |
| | 185.20 | 205.15 | 181.64 | 150.21 |
| | 185.27 | 205.42 | 181.93 | 150.21 |

Fuente: Elaboración propia.

*Los pigmentos obtenidos y catalogados de 10 al 18 obtenidos del microorganismo R se pueden observar en la Figura 35 en Anexos y los textiles teñidos con los mismos en la Figura 38 en Anexos.

Cuadro 40: Luminosidad y colores primarios de la luz para determinar la saturación del color de textiles teñidos con pigmentos obtenidos de microorganismo A obtenidos a partir de histogramas de Adobe Photoshop.

| Muestra | Luminosidad ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Rojo ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Verde ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Azul ($\pm 5 \times 10^{-3}$) |
|---------|-------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| 19 | 136.76 | 151.85 | 135.05 | 104.71 |
| | 139.46 | 156.38 | 137.10 | 106.57 |
| | 138.45 | 152.17 | 135.87 | 104.74 |
| | 137.59 | 156.05 | 135.91 | 105.10 |
| | 136.84 | 155.40 | 136.45 | 105.49 |
| | 138.70 | 154.00 | 135.83 | 106.25 |
| 20 | 165.36 | 179.57 | 168.29 | 110.66 |
| | 163.01 | 178.43 | 166.13 | 105.07 |
| | 164.32 | 179.18 | 167.99 | 108.08 |
| | 164.90 | 179.26 | 167.30 | 108.81 |
| | 165.35 | 179.54 | 167.56 | 108.29 |
| | 163.68 | 178.61 | 168.24 | 109.42 |
| 21 | 181.05 | 194.30 | 182.19 | 139.24 |
| | 179.39 | 192.64 | 180.60 | 137.12 |
| | 179.49 | 193.98 | 181.35 | 137.84 |
| | 180.47 | 193.41 | 181.77 | 138.15 |
| | 180.19 | 193.52 | 181.73 | 138.36 |
| | 179.69 | 194.05 | 180.66 | 137.40 |
| 22 | 186.64 | 197.82 | 187.44 | 152.63 |
| | 182.39 | 193.01 | 183.94 | 144.43 |
| | 182.72 | 195.44 | 185.56 | 147.38 |
| | 184.95 | 194.40 | 183.97 | 145.34 |
| | 183.30 | 195.14 | 186.44 | 144.66 |
| | 183.34 | 193.48 | 184.32 | 144.56 |
| 23 | 190.37 | 214.71 | 184.57 | 154.97 |
| | 190.75 | 214.73 | 185.13 | 155.60 |
| | 190.57 | 214.71 | 184.90 | 155.14 |

| Muestra | Luminosidad ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Rojo ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Verde ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Azul ($\pm 5 \times 10^{-3}$) |
|---------|-------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| | 190.71 | 214.72 | 184.94 | 155.44 |
| | 190.65 | 214.72 | 184.64 | 155.06 |
| | 190.69 | 214.72 | 184.75 | 155.59 |
| | 181.36 | 202.74 | 179.38 | 134.25 |
| | 178.32 | 199.99 | 176.00 | 132.04 |
| 24 | 178.43 | 201.03 | 178.00 | 133.47 |
| | 180.86 | 201.90 | 178.39 | 134.24 |
| | 180.04 | 200.35 | 176.04 | 134.19 |
| | 180.77 | 200.18 | 176.58 | 132.08 |
| | 131.41 | 124.62 | 133.84 | 136.79 |
| | 133.37 | 125.05 | 131.48 | 129.25 |
| 25 | 133.08 | 124.96 | 131.72 | 133.01 |
| | 132.93 | 124.97 | 133.63 | 134.47 |
| | 132.20 | 124.70 | 131.87 | 131.36 |
| | 133.16 | 124.86 | 132.76 | 133.70 |
| | 133.52 | 124.22 | 133.51 | 132.01 |
| | 127.27 | 118.92 | 130.38 | 132.74 |
| 26 | 129.78 | 121.85 | 133.48 | 132.39 |
| | 132.09 | 120.32 | 130.86 | 132.23 |
| | 129.61 | 120.81 | 133.43 | 132.35 |
| | 129.70 | 121.41 | 131.69 | 132.18 |
| | 134.97 | 129.72 | 134.29 | 122.45 |
| | 134.86 | 131.89 | 135.54 | 122.14 |
| 27 | 134.91 | 130.95 | 134.61 | 122.40 |
| | 134.97 | 131.45 | 134.50 | 122.32 |
| | 134.88 | 131.54 | 135.42 | 122.22 |
| | 134.91 | 131.25 | 135.33 | 122.29 |

Fuente: Elaboración propia.

*Los pigmentos obtenidos y catalogados de 19 al 27 obtenidos del microorganismo A se pueden observar en la Figura 34 en Anexos y los textiles teñidos con los mismos en la Figura 37 en Anexos.

Cuadro 41: Luminosidad y colores primarios de la luz para determinar la saturación del color de textiles teñidos con pigmentos comerciales y del textil sin teñir obtenidos a partir de histogramas de Adobe Photoshop.

| Muestra | Luminosidad ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Rojo ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Verde ($\pm 5 \times 10^{-3}$) | Azul ($\pm 5 \times 10^{-3}$) |
|---------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| | 214.17 | 213.17 | 213.17 | 209.07 |
| Textil sin teñir (blanco) | 214.98 | 214.98 | 214.97 | 209.34 |
| | 214.21 | 214.12 | 213.74 | 209.45 |
| | 214.15 | 214.01 | 213.27 | 208.53 |
| | 214.25 | 213.45 | 214.08 | 209.45 |
| | 214.33 | 214.33 | 214.97 | 209.74 |
| | 180.33 | 206.89 | 109.66 | 36.54 |
| | 183.02 | 207.26 | 112.96 | 38.43 |
| Comercial Naranja | 181.80 | 206.89 | 112.55 | 36.99 |
| | 180.78 | 207.16 | 111.21 | 37.87 |
| | 180.39 | 207.19 | 112.55 | 36.78 |
| | 181.75 | 207.12 | 110.57 | 37.35 |
| | 207.79 | 229.52 | 225.30 | 110.56 |
| | 208.03 | 225.40 | 199.05 | 113.77 |
| Comercial Amarillo | 207.96 | 229.11 | 209.15 | 112.83 |
| | 207.89 | 228.49 | 221.34 | 113.38 |
| | 207.95 | 227.23 | 224.72 | 112.82 |
| | 208.02 | 228.25 | 204.11 | 111.64 |
| | 187.32 | 201.81 | 105.80 | 48.72 |
| | 188.14 | 208.53 | 109.37 | 48.17 |
| Comercial Verde | 187.65 | 204.14 | 107.90 | 48.63 |
| | 187.82 | 204.00 | 108.85 | 48.72 |
| | 187.46 | 202.79 | 106.04 | 48.23 |
| | 187.76 | 205.44 | 108.64 | 48.70 |

Fuente: Elaboración propia.

*Los textiles teñidos con los mismos se pueden observar en la Figura 38 en Anexos.

Cuadro 42: Valores de densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) de los pigmentos producidos por el microorganismo N para determinar su absorbancia máxima.

| Longitud de onda (± 0.05 nm) | Muestra | | | | | | | | |
|--------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
| | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | | | | | | | | |
| 300 | 0 | 0.060 | 0.030 | 0.000 | 0.020 | 0.000 | 0.010 | 0.050 | 0.000 |
| 350 | 0.060 | 0.09 | 0.07 | 0.05 | 0.05 | 0.03 | 0.08 | 0.06 | 0.03 |
| 400 | 0.08 | 0.1 | 0.08 | 0.8 | 0.09 | 0.08 | 0.11 | 0.09 | 0.07 |
| 450 | 0.1 | 0.12 | 0.12 | 0.15 | 0.11 | 0.16 | 0.17 | 0.13 | 0.18 |
| 500 | 0.18 | 0.17 | 0.2 | 0.25 | 0.2 | 0.23 | 0.02 | 0.21 | 0.13 |
| 550 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 600 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Fuente: Elaboración propia.

*Los valores de 0 para OD a diferentes longitudes de onda indican la ausencia de absorbancia. Los pigmentos obtenidos y catalogados de 1 al 9 obtenidos del microorganismo N se pueden observar en la Figura 33 en Anexos

Cuadro 43: Valores de densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) de los pigmentos producidos por el microorganismo R para determinar su absorbancia máxima.

| Longitud de onda (± 0.05 nm) | Muestra | | | | | | | | |
|--------------------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 |
| | OD ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | | | | | | | | |
| 300 | 0.030 | 0.020 | 0.010 | 0.000 | 0.060 | 0.050 | 0.040 | 0.000 | 0.060 |
| 350 | 0.08 | 0.07 | 0.02 | 0.02 | 0.07 | 0.09 | 0.08 | 0.07 | 0.09 |
| 400 | 0.12 | 0.12 | 0.1 | 0.09 | 0.12 | 0.12 | 0.1 | 0.14 | 0.13 |
| 450 | 0.18 | 0.19 | 0.14 | 0.19 | 0.21 | 0.14 | 0.13 | 0.21 | 0.14 |
| 500 | 0.03 | 0.07 | 0.24 | 0.01 | 0.05 | 0.2 | 0.19 | 0.05 | 0.23 |
| 550 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 600 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Fuente: Elaboración propia.

*Los valores de 0 para OD a diferentes longitudes de onda indican la ausencia de absorbancia. Los pigmentos obtenidos y catalogados de 10 al 18 obtenidos del microorganismo R se pueden observar en la Figura 35 en Anexos.

Cuadro 44: Valores de densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) de los pigmentos producidos por el microorganismo A para determinar su absorbancia máxima.

| Longitud de onda (±0.05 nm) | Muestra | | | | | | | | |
|--------------------------------|---------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 |
| | OD (±3x10 ⁻³) | | | | | | | | |
| 300 | 0.020 | 0.030 | 0.000 | 0.050 | 0.040 | 0.040 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 350 | 0.07 | 0.05 | 0.03 | 0.06 | 0.08 | 0.07 | 0.01 | 0.01 | 0 |
| 400 | 0.12 | 0.11 | 0.12 | 0.09 | 0.11 | 0.13 | 0.01 | 0.05 | 0.02 |
| 450 | 0.18 | 0.2 | 0.22 | 0.11 | 0.13 | 0.19 | 0.04 | 0.09 | 0.07 |
| 500 | 0.01 | 0.09 | 0.02 | 0.21 | 0.21 | 0.02 | 0.1 | 0.11 | 0.13 |
| 550 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.13 | 0.17 | 0.14 |
| 600 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.22 | 0.23 | 0.25 |
| 650 | - | - | - | - | - | - | 0.17 | 0.18 | 0.14 |

Fuente: Elaboración propia.

*Los valores de 0 para OD a diferentes longitudes de onda indican la ausencia de absorbancia. La notación “-“ para las muestras 19-24 connota la ausencia de medición de densidad óptica a 650 nm. Los pigmentos obtenidos y catalogados de 19 al 27 obtenidos del microorganismo A se pueden observar en la Figura 34 en Anexos.

B. Datos calculados

Cuadro 45: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo N variando la concentración de sacarosa.

| T (± 0.5 min) | Concentración de sacarosa | | |
|--------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| | 10 g/L | 20 g/L | 30 g/L |
| | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 70 | 0.00575 | 0.09735 | 0.1015 |
| 135 | 0.05245 | 0.12045 | 0.03285 |
| 200 | 0.24885 | 0.1871 | 0.1949 |
| 266 | 0.6089 | 0.25685 | 0.52595 |
| 366 | 0.9313 | 0.51895 | 0.8671 |
| 515 | 1.0992 | 0.8264 | 1.0986 |
| 581 | 1.1945 | 0.94145 | 1.2281 |
| 1415 | 1.3178 | 1.1528 | 1.3428 |
| 1535 | 1.4089 | 1.3199 | 1.467 |
| 1650 | 1.4394 | 1.3193 | 1.49065 |
| 1805 | 1.4275 | 1.20425 | 1.5069 |
| 1873 | 1.52065 | 1.31695 | 1.5029 |
| 2000 | 1.62995 | 1.44375 | 1.4827 |
| 2100 | 1.61965 | 1.35685 | 1.52995 |
| 5030 | 1.6315 | 1.39815 | 1.56815 |
| 5224 | 1.63985 | 1.45225 | 1.62225 |
| 6590 | 1.6109 | 1.46125 | 1.6008 |
| 8220 | 1.46755 | 1.4244 | 1.52135 |

Fuente: Elaboración propia

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 46: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo N variando la concentración de extracto de levadura.

| T (± 0.5 min) | Concentración de extracto de levadura | | |
|--------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| | 1 g/L | 2 g/L | 3 g/L |
| | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 51 | 0.0049 | 0.00615 | 0.00655 |
| 111 | 0.02165 | 0.02495 | 0.0231 |
| 171 | 0.04925 | 0.0558 | 0.05215 |
| 1336 | 0.71315 | 0.73125 | 0.75165 |
| 1391 | 1.37185 | 1.40275 | 1.4584 |
| 1451 | 1.3976 | 1.41405 | 1.48755 |
| 1506 | 1.4228 | 1.4597 | 1.5098 |
| 1561 | 1.47125 | 1.5143 | 1.52675 |
| 2751 | 1.5934 | 1.57475 | 1.6209 |
| 2811 | 1.69435 | 1.63145 | 1.7246 |
| 2871 | 1.7019 | 1.63565 | 1.7155 |
| 2931 | 1.69875 | 1.65375 | 1.6647 |
| 2991 | 1.64295 | 1.61335 | 1.66085 |
| 8558 | 1.22765 | 1.2064 | 1.2746 |
| 8831 | 0.865 | 0.8512 | 0.85755 |
| 9985 | 0.7545 | 0.7528 | 0.7561 |

Fuente: Elaboración propia

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 47: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo N variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| T (± 0.5 min) | Concentración de fosfato de potasio | | |
|--------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| | 0.5 g/L | 1 g/L | 1.5 g/L |
| | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 92 | 0.0406 | 0.0413 | 0.03295 |
| 73 | 0.20075 | 0.1832 | 0.14355 |
| 93 | 0.3939 | 0.3555 | 0.29825 |
| 233 | 0.52755 | 0.51135 | 0.48395 |
| 1088 | 0.6315 | 0.63695 | 0.62295 |
| 1188 | 0.6587 | 0.65975 | 0.6361 |
| 1248 | 0.6557 | 0.65455 | 0.63005 |
| 1338 | 0.6567 | 0.655 | 0.6316 |
| 1433 | 0.65945 | 0.655 | 0.6371 |
| 1483 | 0.66025 | 0.6556 | 0.6371 |
| 2548 | 0.6621 | 0.6576 | 0.64265 |
| 2903 | 0.6653 | 0.66035 | 0.64745 |
| 4328 | 0.66645 | 0.66755 | 0.6605 |
| 4553 | 0.6631 | 0.6723 | 0.67175 |
| 6080 | 0.6498 | 0.66845 | 0.6684 |
| 6395 | 0.63685 | 0.66345 | 0.6666 |

Fuente: Elaboración propia

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 48: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo A variando la concentración de sacarosa.

| T (± 0.5 min) | Concentración de sacarosa | | |
|--------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| | 10 g/L | 20 g/L | 30 g/L |
| | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 70 | 0.02895 | 0.10495 | 0.06885 |
| 135 | 0.07475 | 0.12155 | 0.0981 |
| 200 | 0.2667 | 0.1972 | 0.26155 |
| 266 | 0.5873 | 0.36325 | 0.57525 |
| 366 | 0.8987 | 0.67025 | 0.93925 |
| 515 | 1.1667 | 0.9377 | 1.2033 |
| 581 | 1.3712 | 1.1346 | 1.3562 |
| 1415 | 1.44495 | 1.30405 | 1.4585 |
| 1535 | 1.44235 | 1.38975 | 1.5143 |
| 1650 | 1.4309 | 1.36695 | 1.53665 |
| 1805 | 1.46275 | 1.33 | 1.4855 |
| 1873 | 1.54405 | 1.3983 | 1.50005 |
| 2000 | 1.5964 | 1.4629 | 1.53715 |
| 2100 | 1.61095 | 1.4351 | 1.4855 |
| 5030 | 1.65605 | 1.4939 | 1.5419 |
| 5224 | 1.7426 | 1.6225 | 1.6528 |
| 6590 | 1.6726 | 1.62255 | 1.67745 |
| 8220 | 1.4791 | 1.5655 | 1.5797 |

Fuente: Elaboración propia

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 49: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo A variando la concentración de extracto de levadura.

| T (± 0.5 min) | Concentración de extracto de levadura | | |
|--------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| | 1 g/L | 2 g/L | 3 g/L |
| | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 45 | 0.00645 | 0.0102 | 0.00795 |
| 105 | 0.0384 | 0.04995 | 0.0427 |
| 165 | 0.11475 | 0.134 | 0.1294 |
| 1330 | 0.549 | 0.5465 | 0.59965 |
| 1385 | 0.93055 | 0.9169 | 1.0095 |
| 1445 | 0.9353 | 0.9289 | 1.02 |
| 1500 | 0.95185 | 0.944 | 1.03305 |
| 1555 | 0.96725 | 0.9625 | 1.04995 |
| 2745 | 1.029 | 1.02415 | 1.1263 |
| 2805 | 1.09235 | 1.10715 | 1.19085 |
| 2865 | 1.1146 | 1.1354 | 1.1964 |
| 2925 | 1.11875 | 1.13595 | 1.20305 |
| 2985 | 1.1071 | 1.12765 | 1.20615 |
| 8552 | 1.30715 | 1.29275 | 1.42465 |
| 8825 | 1.07215 | 1.02985 | 1.14825 |
| 9979 | 0.6401 | 0.60295 | 0.65635 |

Fuente: Elaboración propia

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 50: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo A variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| T (±0.5 min) | Concentración de fosfato de potasio | | |
|--------------|----------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|
| | 0.5 g/L | 1 g/L | 1.5 g/L |
| | OD suavizado (±3x10 ⁻³) | OD suavizado (±3x10 ⁻³) | OD suavizado (±3x10 ⁻³) |
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 92 | 0.38315 | 0.03215 | 0.0406 |
| 73 | 0.54415 | 0.19145 | 0.1973 |
| 93 | 0.38265 | 0.3775 | 0.3826 |
| 233 | 0.51845 | 0.53735 | 0.53935 |
| 1088 | 0.6248 | 0.6483 | 0.6402 |
| 1188 | 0.6578 | 0.66 | 0.6559 |
| 1248 | 0.6581 | 0.6569 | 0.6576 |
| 1338 | 0.65825 | 0.6579 | 0.65635 |
| 1433 | 0.65925 | 0.66295 | 0.65655 |
| 1483 | 0.6621 | 0.66595 | 0.6573 |
| 2548 | 0.66435 | 0.66885 | 0.6652 |
| 2903 | 0.66865 | 0.6712 | 0.6732 |
| 4328 | 0.67165 | 0.6732 | 0.6742 |
| 4553 | 0.6708 | 0.674 | 0.6727 |
| 6080 | 0.66675 | 0.6683 | 0.67015 |
| 6395 | 0.66515 | 0.64775 | 0.66835 |

Fuente: Elaboración propia

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 51: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo R variando la concentración de sacarosa.

| T (± 0.5 min) | Concentración de sacarosa | | |
|--------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| | 10 g/L | 20 g/L | 30 g/L |
| | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 84 | 0.03835 | 0.0284 | 0.05935 |
| 251 | 0.21535 | 0.20145 | 0.2501 |
| 334 | 0.5053 | 0.48085 | 0.53815 |
| 394 | 0.6577 | 0.61015 | 0.64635 |
| 459 | 0.70955 | 0.6754 | 0.7266 |
| 519 | 0.7651 | 0.7887 | 0.80795 |
| 1074 | 0.86175 | 0.8801 | 0.88685 |
| 1309 | 0.979 | 0.9616 | 0.98 |
| 1429 | 1.0683 | 1.0564 | 1.0461 |
| 1564 | 1.0835 | 1.10525 | 1.0011 |
| 1701 | 1.1099 | 1.1944 | 1.09385 |
| 2545 | 1.2949 | 1.42415 | 1.347 |
| 2619 | 1.45455 | 1.65495 | 1.44965 |
| 2684 | 1.46025 | 1.6649 | 1.54345 |
| 2910 | 1.43405 | 1.6052 | 1.65505 |
| 4010 | 1.4676 | 1.61675 | 1.6469 |
| 4072 | 1.61925 | 1.7021 | 1.65895 |

Fuente: Elaboración propia

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 52: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo R variando la concentración de extracto de levadura.

| T (± 0.5 min) | Concentración de extracto de levadura | | |
|--------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| | 1 g/L | 2 g/L | 3 g/L |
| | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 62 | 0.0035 | 0.0056 | 0.00495 |
| 152 | 0.01975 | 0.01975 | 0.0267 |
| 237 | 0.10885 | 0.1013 | 0.13355 |
| 1356 | 0.4033 | 0.39435 | 0.4296 |
| 1412 | 0.62425 | 0.6194 | 0.6397 |
| 1469 | 0.62645 | 0.61995 | 0.63985 |
| 1527 | 0.6299 | 0.62405 | 0.6395 |
| 1580 | 0.63095 | 0.6227 | 0.63715 |
| 2782 | 0.64265 | 0.6191 | 0.64045 |
| 2847 | 0.6551 | 0.6206 | 0.65445 |
| 2897 | 0.656 | 0.62045 | 0.66145 |
| 2952 | 0.6547 | 0.61915 | 0.6607 |
| 2992 | 0.65685 | 0.616 | 0.65995 |
| 8722 | 0.66295 | 0.6326 | 0.6654 |
| 8807 | 0.6637 | 0.65405 | 0.66475 |
| 8897 | 0.63385 | 0.65435 | 0.6501 |

Fuente: Elaboración propia

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 53: Valores de densidad óptica suavizada a 600 nm y tiempo de fermentación para construir curva de crecimiento de microorganismo R variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| T (± 0.5 min) | Concentración de fosfato de potasio | | |
|--------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|
| | 0.5 g/L | 1 g/L | 1.5 g/L |
| | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) | OD suavizado ($\pm 3 \times 10^{-3}$) |
| 0 | 0 | 0 | 0 |
| 122 | 0.0005 | 0.0035 | 0.0025 |
| 257 | 0.0025 | 0.0115 | 0.006 |
| 400 | 0.006 | 0.022 | 0.064 |
| 482 | 0.058425 | 0.11225 | 0.14965 |
| 607 | 0.256075 | 0.28655 | 0.304 |
| 1457 | 0.47035 | 0.45255 | 0.49855 |
| 1532 | 0.53615 | 0.53465 | 0.5616 |
| 1652 | 0.54195 | 0.5444 | 0.55755 |
| 1802 | 0.55565 | 0.55745 | 0.5621 |
| 1897 | 0.56485 | 0.57035 | 0.56585 |
| 1967 | 0.56945 | 0.58365 | 0.56505 |
| 2927 | 0.57595 | 0.6029 | 0.57935 |
| 3257 | 0.5822 | 0.6158 | 0.60135 |
| 7427 | 0.59295 | 0.639 | 0.63575 |
| 8852 | 0.59475 | 0.63185 | 0.64045 |
| 9992 | 0.5543 | 0.5754 | 0.5853 |

Fuente: Elaboración propia

*OD se refiere a la densidad óptica de la fermentación medida a una longitud de onda de 600 nm y las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación llevadas a cabo a 37 °C y 150 rpm durante una semana.

Cuadro 54: Pigmento producido por el microorganismo N variando la concentración de sacarosa.

| Triplicado | Concentración de sacarosa (g/L) | Pigmento producido (± 0.001 g) | Pigmento producido (mg/mL) |
|------------|---------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| 1 | 10 | 0.113 | 11.3 \pm 0.665 |
| | 20 | 0.106 | 10.6 \pm 0.629 |
| | 30 | 0.245 | 24.5 \pm 1.324 |
| 2 | 10 | 0.089 | 8.9 \pm 0.546 |
| | 20 | 0.096 | 9.6 \pm 0.581 |
| | 30 | 0.186 | 18.6 \pm 1.029 |
| 3 | 10 | 0.108 | 10.8 \pm 0.640 |
| | 20 | 0.149 | 14.9 \pm 0.845 |
| | 30 | 0.176 | 17.6 \pm 0.980 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 55: Pigmento producido por el microorganismo N variando la concentración de extracto de levadura.

| Triplicado | Concentración de extracto de levadura (g/L) | Pigmento producido (± 0.001 g) | Pigmento producido (mg/mL) |
|------------|---------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| 1 | 1 | 0.197 | 19.7 \pm 1.085 |
| | 2 | 0.222 | 22.2 \pm 1.210 |
| | 3 | 0.219 | 21.9 \pm 1.195 |
| 2 | 1 | 0.232 | 23.2 \pm 1.262 |
| | 2 | 0.171 | 17.1 \pm 0.956 |
| | 3 | 0.230 | 23.1 \pm 1.251 |
| 3 | 1 | 0.136 | 13.6 \pm 0.781 |
| | 2 | 0.186 | 18.6 \pm 1.029 |
| | 3 | 0.196 | 19.6 \pm 1.080 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 56: Pigmento producido por el microorganismo N variando la concentración de fosfato de potasio monobásico.

| Triplicado | Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Pigmento producido (± 0.001 g) | Pigmento producido (mg/mL) |
|------------|-------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| 1 | 0.5 | 0.093 | 9.3 \pm 0.565 |
| | 1.0 | 0.292 | 29.2 \pm 1.560 |
| | 1.5 | 0.188 | 18.8 \pm 1.04 |
| 2 | 0.5 | 0.111 | 11.1 \pm 0.655 |
| | 1.0 | 0.196 | 19.6 \pm 1.080 |
| | 1.5 | 0.201 | 20.1 \pm 1.105 |
| 3 | 0.5 | 0.109 | 10.9 \pm 0.645 |
| | 1.0 | 0.270 | 27.0 \pm 1.450 |
| | 1.5 | 0.195 | 19.5 \pm 1.075 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 57: Pigmento producido por el microorganismo A variando la concentración de sacarosa.

| Triplicado | Concentración de sacarosa (g/L) | Pigmento producido (± 0.001 g) | Pigmento producido (mg/mL) |
|------------|---------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| 1 | 10 | 0.164 | 16.4 \pm 0.919 |
| | 20 | 0.082 | 8.2 \pm 0.508 |
| | 30 | 0.069 | 6.9 \pm 0.444 |
| 2 | 10 | 0.101 | 10.1 \pm 0.603 |
| | 20 | 0.076 | 7.6 \pm 0.479 |
| | 30 | 0.106 | 10.6 \pm 0.629 |
| 3 | 10 | 0.129 | 12.9 \pm 0.745 |
| | 20 | 0.186 | 18.6 \pm 1.030 |
| | 30 | 0.098 | 9.8 \pm 0.59 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 58: Pigmento producido por el microorganismo A variando la concentración de extracto de levadura.

| Triplicado | Concentración de extracto de levadura (g/L) | Pigmento producido (± 0.001 g) | Pigmento producido (mg/mL) |
|------------|---------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| 1 | 1 | 0.096 | 9.6 \pm 0.580 |
| | 2 | 0.088 | 8.8 \pm 0.540 |
| | 3 | 0.127 | 12.7 \pm 0.735 |
| 2 | 1 | 0.156 | 15.6 \pm 0.882 |
| | 2 | 0.144 | 14.4 \pm 0.820 |
| | 3 | 0.139 | 13.9 \pm 0.795 |
| 3 | 1 | 0.138 | 13.8 \pm 0.790 |
| | 2 | 0.146 | 14.6 \pm 0.828 |
| | 3 | 0.139 | 13.9 \pm 0.793 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 59: Pigmento producido por el microorganismo A variando la concentración de fosfato de potasio monobásico.

| Triplicado | Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Pigmento producido (± 0.001 g) | Pigmento producido (mg/mL) |
|------------|-------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| 1 | 0.5 | 0.165 | 16.5 \pm 0.925 |
| | 1.0 | 0.047 | 4.7 \pm 0.335 |
| | 1.5 | 0.134 | 13.4 \pm 0.77 |
| 2 | 0.5 | 0.133 | 13.3 \pm 0.765 |
| | 1.0 | 0.082 | 8.2 \pm 0.510 |
| | 1.5 | 0.079 | 7.9 \pm 0.495 |
| 3 | 0.5 | 0.106 | 10.6 \pm 0.630 |
| | 1.0 | 0.119 | 11.9 \pm 0.695 |
| | 1.5 | 0.085 | 8.5 \pm 0.525 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 60: Pigmento producido por el microorganismo R variando la concentración de sacarosa.

| Triplicado | Concentración de sacarosa (g/L) | Pigmento producido (± 0.001 g) | Pigmento producido (mg/mL) |
|------------|---------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| 1 | 10 | 0.050 | 5.1 \pm 0.353 |
| | 20 | 0.041 | 4.1 \pm 0.306 |
| | 30 | 0.064 | 6.4 \pm 0.422 |
| 2 | 10 | 0.063 | 6.3 \pm 0.417 |
| | 20 | 0.094 | 9.4 \pm 0.569 |
| | 30 | 0.099 | 9.9 \pm 0.595 |
| 3 | 10 | 0.113 | 11.3 \pm 0.665 |
| | 20 | 0.124 | 12.4 \pm 0.720 |
| | 30 | 0.145 | 14.5 \pm 0.825 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 61: Pigmento producido por el microorganismo R variando la concentración de extracto de levadura.

| Triplicado | Concentración de extracto de levadura (g/L) | Pigmento producido (± 0.001 g) | Pigmento producido (mg/mL) |
|------------|---------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| 1 | 1 | 0.394 | 29.4 \pm 2.068 |
| | 2 | 0.188 | 18.8 \pm 1.041 |
| | 3 | 0.134 | 13.4 \pm 0.772 |
| 2 | 1 | 0.370 | 27.0 \pm 1.950 |
| | 2 | 0.223 | 22.3 \pm 1.215 |
| | 3 | 0.134 | 13.4 \pm 0.770 |
| 3 | 1 | 0.370 | 27.0 \pm 1.950 |
| | 2 | 0.285 | 28.5 \pm 1.527 |
| | 3 | 0.097 | 9.7 \pm 0.587 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 62: Pigmento producido por el microorganismo R variando la concentración de fosfato de potasio monobásico.

| Triplicado | Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Pigmento producido (± 0.001 g) | Pigmento producido (mg/mL) |
|------------|-------------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------|
| 1 | 0.5 | 0.176 | 17.6 \pm 0.980 |
| | 1.0 | 0.269 | 26.9 \pm 1.445 |
| | 1.5 | 0.425 | 32.5 \pm 2.225 |
| 2 | 0.5 | 0.194 | 19.4 \pm 1.070 |
| | 1.0 | 0.235 | 23.5 \pm 1.275 |
| | 1.5 | 0.376 | 27.6 \pm 1.980 |
| 3 | 0.5 | 0.144 | 14.4 \pm 0.820 |
| | 1.0 | 0.302 | 30.2 \pm 1.610 |
| | 1.5 | 0.362 | 26.2 \pm 1.910 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 63: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo N variando la concentración de sacarosa.

| Concentración de sacarosa (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|---------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 10 | 11.3 \pm 0.665 | 8.9 \pm 0.546 | 10.8 \pm 0.640 | 10.3 \pm 1.3 |
| 20 | 10.6 \pm 0.629 | 9.6 \pm 0.581 | 14.9 \pm 0.845 | 11.7 \pm 2.8 |
| 30 | 24.5 \pm 1.324 | 18.6 \pm 1.029 | 17.6 \pm 0.980 | 20.2 \pm 3.7 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 64: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo N variando la concentración de extracto de levadura.

| Concentración de extracto de levadura (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|---------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 1 | 19.7 ±1.085 | 23.2 ±1.262 | 13.6 ±0.781 | 18.9 ±4.9 |
| 2 | 22.2 ±1.210 | 17.1 ±0.956 | 18.6 ±1.029 | 19.3 ±2.6 |
| 3 | 21.9 ±1.195 | 23.1 ±1.251 | 19.6 ±1.080 | 21.5 ±1.7 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 65: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo N variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|-------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 0.5 | 9.3 ±0.565 | 11.1 ±0.655 | 10.9 ±0.645 | 10.4 ±1.0 |
| 1.0 | 29.2 ±1.560 | 19.6 ±1.080 | 27.0 ±1.450 | 25.3 ±5.0 |
| 1.5 | 18.8 ±1.04 | 20.1 ±1.105 | 19.5 ±1.075 | 19.5 ±0.7 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 66: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo A variando la concentración de sacarosa.

| Concentración de sacarosa (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|---------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 10 | 16.4 ±0.919 | 10.1 ±0.603 | 12.9 ±0.745 | 13.1 ±3.2 |
| 20 | 8.2 ±0.508 | 7.6 ±0.479 | 18.6 ±1.030 | 11.4 ±6.2 |
| 30 | 6.9 ±0.444 | 10.6 ±0.629 | 9.8 ±0.59 | 9.1 ±1.9 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 67: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo A variando la concentración de extracto de levadura.

| Concentración de extracto de levadura (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|---------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 1 | 9.6 ±0.580 | 15.6 ±0.882 | 13.8 ±0.790 | 13.0 ±3.1 |
| 2 | 8.8 ±0.540 | 14.4 ±0.820 | 14.6 ±0.828 | 12.6 ±3.3 |
| 3 | 12.7 ±0.735 | 13.9 ±0.795 | 13.9 ±0.793 | 13.5 ±0.7 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 68: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo A variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|-------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 0.5 | 16.5 ±0.925 | 13.3 ±0.765 | 10.6 ±0.630 | 13.5 ±3.0 |
| 1.0 | 4.7 ±0.335 | 8.2 ±0.510 | 11.9 ±0.695 | 8.3 ±3.6 |
| 1.5 | 13.4 ±0.77 | 7.9 ±0.495 | 8.5 ±0.525 | 9.9 ±3.0 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 69: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo R variando la concentración de sacarosa.

| Concentración de sacarosa (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|---------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 10 | 5.1 ±0.353 | 6.3 ±0.417 | 11.3 ±0.665 | 7.6 ±3.3 |
| 20 | 4.1 ±0.306 | 9.4 ±0.569 | 12.4 ±0.720 | 8.6 ±4.3 |
| 30 | 6.4 ±0.422 | 9.9 ±0.595 | 14.5 ±0.825 | 10.3 ±4.0 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 70: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo R variando la concentración de extracto de levadura.

| Concentración de extracto de levadura (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|---------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 1 | 29.4 ±2.068 | 27.0 ±1.950 | 27.0 ±1.950 | 27.8 ±1.4 |
| 2 | 18.8 ±1.041 | 22.3 ±1.215 | 28.5 ±1.527 | 23.2 ±4.9 |
| 3 | 13.4 ±0.772 | 13.4 ±0.770 | 9.7 ±0.587 | 12.2 ±2.1 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 71: Promedio y desviación estándar de pigmento producido por el microorganismo R variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|-------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 0.5 | 17.6 ±0.980 | 19.4 ±1.070 | 14.4 ±0.820 | 17.1 ±2.5 |
| 1.0 | 26.9 ±1.445 | 23.5 ±1.275 | 30.2 ±1.610 | 26.9 ±3.4 |
| 1.5 | 32.5 ±2.225 | 27.6 ±1.980 | 26.2 ±1.910 | 28.8 ±3.3 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 72: Biomasa obtenida del microorganismo N variando la concentración de sacarosa.

| Triplicado | Concentración de sacarosa (g/L) | Biomasa (g \pm 0.001) | Biomasa (mg/mL) |
|------------|---------------------------------|-------------------------|-------------------|
| 1 | 10 | 0.03 | 0.18 \pm 0.10 |
| | 20 | 0.12 | 0.77 \pm 0.017 |
| | 30 | 0.22 | 1.44 \pm 0.026 |
| 2 | 10 | 0.2 | 1.33 \pm 0.024 |
| | 20 | 0.25 | 1.68 \pm 0.030 |
| | 30 | 0.13 | 0.865 \pm 0.018 |
| 3 | 10 | 0.1 | 0.63 \pm 0.015 |
| | 20 | 0.12 | 0.80 \pm 0.017 |
| | 30 | 0.06 | 0.38 \pm 0.012 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 73: Biomasa obtenida del microorganismo N variando la concentración de extracto de levadura.

| Triplicado | Concentración de extracto de levadura (g/L) | Biomasa (g \pm 0.001) | Biomasa (mg/mL) |
|------------|---------------------------------------------|-------------------------|------------------|
| 1 | 1 | 0.23 | 1.54 \pm 0.027 |
| | 2 | 0.25 | 1.69 \pm 0.029 |
| | 3 | 0.11 | 0.73 \pm 0.016 |
| 2 | 1 | 0.19 | 1.23 \pm 0.023 |
| | 2 | 0.19 | 1.26 \pm 0.023 |
| | 3 | 0.06 | 0.38 \pm 0.012 |
| 3 | 1 | 0.20 | 1.36 \pm 0.025 |
| | 2 | 0.23 | 1.52 \pm 0.027 |
| | 3 | 0.03 | 0.20 \pm 0.010 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 74: Biomasa obtenida del microorganismo N variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Triplicado | Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Biomasa (g \pm 0.001) | Biomasa (mg/mL) |
|------------|-------------------------------------------|-------------------------|------------------|
| 1 | 0.5 | 0.39 | 2.62 \pm 0.042 |
| | 1 | 0.43 | 2.89 \pm 0.045 |
| | 1.5 | 0.49 | 3.26 \pm 0.050 |
| 2 | 0.5 | 0.32 | 2.16 \pm 0.035 |
| | 1 | 0.39 | 2.61 \pm 0.041 |
| | 1.5 | 0.582 | 3.88 \pm 0.058 |
| 3 | 0.5 | 0.43 | 2.89 \pm 0.045 |
| | 1 | 0.41 | 2.70 \pm 0.043 |
| | 1.5 | 0.56 | 3.75 \pm 0.057 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 75: Biomasa obtenida del microorganismo A variando la concentración de sacarosa.

| Triplicado | Concentración de sacarosa (g/L) | Biomasa (g \pm 0.001) | Biomasa (mg/mL) |
|------------|---------------------------------|-------------------------|------------------|
| 1 | 10 | 0.07 | 0.43 \pm 0.012 |
| | 20 | 0.12 | 0.81 \pm 0.018 |
| | 30 | 0.16 | 1.05 \pm 0.021 |
| 2 | 10 | 0.09 | 0.63 \pm 0.015 |
| | 20 | 0.20 | 1.34 \pm 0.025 |
| | 30 | 0.30 | 2.02 \pm 0.034 |
| 3 | 10 | 0.02 | 0.13 \pm 0.008 |
| | 20 | 0.17 | 1.15 \pm 0.022 |
| | 30 | 0.23 | 1.50 \pm 0.027 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 76: Biomasa obtenida del microorganismo A variando la concentración de extracto de levadura.

| Triplicado | Concentración de extracto de levadura (g/L) | Biomasa (g \pm 0.001) | Biomasa (mg/mL) |
|------------|---------------------------------------------|-------------------------|------------------|
| 1 | 1 | 0.11 | 0.71 \pm 0.016 |
| | 2 | 0.12 | 0.80 \pm 0.017 |
| | 3 | 0.15 | 0.98 \pm 0.020 |
| 2 | 1 | 0.07 | 0.42 \pm 0.012 |
| | 2 | 0.05 | 0.34 \pm 0.011 |
| | 3 | 0.03 | 0.22 \pm 0.010 |
| 3 | 1 | 0.1 | 0.68 \pm 0.016 |
| | 2 | 0.12 | 0.79 \pm 0.017 |
| | 3 | 0.03 | 0.21 \pm 0.010 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 77: Biomasa obtenida del microorganismo A variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Triplicado | Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Biomasa (g \pm 0.001) | Biomasa (mg/mL) |
|------------|-------------------------------------------|-------------------------|------------------|
| 1 | 0.5 | 0.09 | 0.59 \pm 0.015 |
| | 1 | 0.30 | 1.97 \pm 0.033 |
| | 1.5 | 0.19 | 1.25 \pm 0.023 |
| 2 | 0.5 | 0.13 | 0.87 \pm 0.018 |
| | 1 | 0.25 | 1.65 \pm 0.029 |
| | 1.5 | 0.27 | 1.77 \pm 0.030 |
| 3 | 0.5 | 0.08 | 0.50 \pm 0.013 |
| | 1 | 0.20 | 1.33 \pm 0.024 |
| | 1.5 | 0.25 | 1.63 \pm 0.028 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 78: Biomasa obtenida del microorganismo R variando la concentración de sacarosa.

| Triplicado | Concentración de sacarosa (g/L) | Biomasa (g \pm 0.001) | Biomasa (mg/mL) |
|------------|---------------------------------|-------------------------|------------------|
| 1 | 10 | 0.04 | 0.26 \pm 0.010 |
| | 20 | 0.05 | 0.31 \pm 0.011 |
| | 30 | 0.12 | 0.82 \pm 0.018 |
| 2 | 10 | 0.11 | 0.70 \pm 0.016 |
| | 20 | 0.05 | 0.35 \pm 0.011 |
| | 30 | 0.14 | 0.92 \pm 0.019 |
| 3 | 10 | 0.06 | 0.41 \pm 0.012 |
| | 20 | 0.03 | 0.22 \pm 0.010 |
| | 30 | 0.13 | 0.85 \pm 0.018 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 79: Biomasa obtenida del microorganismo R variando la concentración de extracto de levadura.

| Triplicado | Concentración de extracto de levadura (g/L) | Biomasa (g \pm 0.001) | Biomasa (mg/mL) |
|------------|---------------------------------------------|-------------------------|------------------|
| 1 | 1 | 0.60 | 3.97 \pm 0.060 |
| | 2 | 0.33 | 2.2 \pm 0.036 |
| | 3 | 0.05 | 0.33 \pm 0.011 |
| 2 | 1 | 0.55 | 3.68 \pm 0.056 |
| | 2 | 0.27 | 1.78 \pm 0.030 |
| | 3 | 0.08 | 0.52 \pm 0.014 |
| 3 | 1 | 0.56 | 3.75 \pm 0.057 |
| | 2 | 0.21 | 1.37 \pm 0.025 |
| | 3 | 0.1 | 0.67 \pm 0.016 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 80: Biomasa obtenida del microorganismo R variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Triplicado | Concentración de fosfato de potasio (g/L) | | Biomasa (g ±0.001) | Biomasa (mg/mL) |
|------------|-------------------------------------------|--|--------------------|-----------------|
| | | | | |
| 1 | 0.5 | | 0.23 | 1.50 ±0.027 |
| | 1 | | 0.75 | 5.03 ±0.074 |
| | 1.5 | | 0.80 | 5.31 ±0.078 |
| 2 | 0.5 | | 0.20 | 1.33 ±0.024 |
| | 1 | | 0.67 | 4.44 ±0.066 |
| | 1.5 | | 0.79 | 5.29 ±0.077 |
| 3 | 0.5 | | 0.09 | 0.57 ±0.014 |
| | 1 | | 0.65 | 4.32 ±0.064 |
| | 1.5 | | 0.81 | 5.41 ±0.079 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 81: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo N variando la concentración de sacarosa.

| Concentración de sacarosa (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|---------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 10 | 0.18 ±0.010 | 1.33 ±0.024 | 0.63 ±0.015 | 0.71 ±0.58 |
| 20 | 0.77 ±0.017 | 1.68 ±0.030 | 0.80 ±0.017 | 1.08 ±0.52 |
| 30 | 1.44 ±0.026 | 0.865 ±0.018 | 0.38 ±0.012 | 0.90 ±0.53 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 82: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo N variando la concentración de extracto de levadura.

| Concentración de extracto de levadura (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|---------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 1 | 1.54 ±0.027 | 1.23 ±0.023 | 1.36 ±0.025 | 1.38 ±0.15 |
| 2 | 1.69 ±0.029 | 1.26 ±0.023 | 1.52 ±0.027 | 1.49 ±0.22 |
| 3 | 0.73 ±0.016 | 0.38 ±0.012 | 0.20 ±0.010 | 0.44 ±0.27 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 83: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo N variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|-------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 0.5 | 2.62 ±0.042 | 2.16 ±0.035 | 2.89 ±0.045 | 2.56 ±0.37 |
| 1 | 2.89 ±0.045 | 2.61 ±0.041 | 2.70 ±0.043 | 2.73 ±0.14 |
| 1.5 | 3.26 ±0.050 | 3.88 ±0.058 | 3.75 ±0.057 | 3.63 ±0.33 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 84: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo A variando la concentración de sacarosa.

| Concentración de sacarosa (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|---------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 10 | 0.43 ±0.012 | 0.63 ±0.015 | 0.13 ±0.008 | 0.40 ±0.25 |
| 20 | 0.81 ±0.018 | 1.34 ±0.025 | 1.15 ±0.022 | 1.10 ±0.27 |
| 30 | 1.05 ±0.021 | 2.02 ±0.034 | 1.50 ±0.027 | 1.52 ±0.49 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 85: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo A variando la concentración de extracto de levadura.

| Concentración de extracto de levadura (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|---------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 1 | 0.71 ±0.016 | 0.42 ±0.012 | 0.68 ±0.016 | 0.60 ±0.16 |
| 2 | 0.80 ±0.017 | 0.34 ±0.011 | 0.79 ±0.017 | 0.64 ±0.26 |
| 3 | 0.98 ±0.020 | 0.22 ±0.010 | 0.21 ±0.010 | 0.47 ±0.44 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 86: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo A variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|-------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 0.5 | 0.59 ±0.015 | 0.87 ±0.018 | 0.50 ±0.013 | 0.65 ±0.19 |
| 1 | 1.97 ±0.033 | 1.65 ±0.029 | 1.33 ±0.024 | 1.65 ±0.32 |
| 1.5 | 1.25 ±0.023 | 1.77 ±0.030 | 1.63 ±0.028 | 1.55 ±0.27 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 87: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo R variando la concentración de sacarosa.

| Concentración de sacarosa (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|---------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 10 | 0.26 ±0.010 | 0.70 ±0.016 | 0.41 ±0.012 | 0.46 ±0.22 |
| 20 | 0.31 ±0.011 | 0.35 ±0.011 | 0.22 ±0.010 | 0.29 ±0.07 |
| 30 | 0.82 ±0.018 | 0.92 ±0.019 | 0.85 ±0.018 | 0.86 ±0.05 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de sacarosa (10, 20 y 30 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 88: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo R variando la concentración de extracto de levadura.

| Concentración de extracto de levadura (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|---------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 1 | 3.97 ±0.060 | 3.68 ±0.056 | 3.75 ±0.057 | 3.80 ±0.15 |
| 2 | 2.2 ±0.036 | 1.78 ±0.030 | 1.37 ±0.025 | 1.78 ±0.42 |
| 3 | 0.33 ±0.011 | 0.52 ±0.014 | 0.67 ±0.016 | 0.51 ±0.17 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de extracto de levadura (1, 2 y 3 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 89: Promedio y desviación estándar de biomasa obtenida del microorganismo R variando la concentración de fosfatos de potasio monobásico.

| Concentración de fosfato de potasio (g/L) | Triplicado | | | Promedio (mg/mL) |
|-------------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | Primero (mg/mL) | Segundo (mg/mL) | Tercero (mg/mL) | |
| 0.5 | 1.50 ±0.027 | 1.33 ±0.024 | 0.57 ±0.014 | 1.13 ±0.49 |
| 1 | 5.03 ±0.074 | 4.44 ±0.066 | 4.32 ±0.064 | 4.60 ±0.38 |
| 1.5 | 5.31 ±0.078 | 5.29 ±0.077 | 5.41 ±0.079 | 5.34 ±0.07 |

Fuente: Elaboración propia

*Biomasa obtenida en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de fosfatos de potasio monobásico (0.5, 1 y 1.5 g/L) son las iniciales de cada fermentación realizada.

Cuadro 90: Saturación del color de textiles teñidos con pigmentos obtenidos del microorganismo

N.

| Muestra | Saturación (%) | Promedio (%) |
|---------|----------------|--------------|
| 1 | 19.98 | 19.96 ±0.16 |
| | 20.11 | |
| | 19.75 | |
| | 19.84 | |
| | 19.92 | |
| | 20.19 | |
| 2 | 20.33 | 21.91 ±0.83 |
| | 22.38 | |
| | 22.23 | |
| | 22.35 | |
| | 22.52 | |
| 3 | 21.64 | 22.87 ±0.32 |
| | 22.85 | |
| | 22.78 | |
| | 22.43 | |
| | 23.30 | |
| | 22.68 | |
| 4 | 23.18 | 21.05 ±0.74 |
| | 20.36 | |
| | 21.62 | |
| | 21.40 | |
| | 22.06 | |
| 5 | 20.57 | 20.53 ±1.18 |
| | 20.30 | |
| | 18.99 | |
| | 22.29 | |
| | 20.88 | |
| | 20.10 | |

| Muestra | Saturación (%) | Promedio (%) |
|---------|----------------|--------------|
| 6 | 21.22 | 24.38 ±0.79 |
| | 19.70 | |
| | 24.25 | |
| | 24.67 | |
| | 25.73 | |
| | 23.73 | |
| | 23.49 | |
| 24.38 | | |
| 7 | 23.27 | 23.02 ±0.80 |
| | 22.39 | |
| | 23.39 | |
| | 21.99 | |
| | 22.83 | |
| | 24.24 | |
| 8 | 17.27 | 17.61 ±0.40 |
| | 17.77 | |
| | 16.98 | |
| | 17.79 | |
| | 18.05 | |
| | 17.78 | |
| 9 | 15.42 | 15.39 ±0.62 |
| | 16.06 | |
| | 15.10 | |
| | 15.17 | |
| | 16.11 | |
| | 14.47 | |

Fuente: Elaboración propia

*Los pigmentos obtenidos y catalogados de 1 al 9 obtenidos del microorganismo N se pueden observar en la Figura 33 en Anexos y los textiles teñidos con los mismos en la Figura 36 en Anexos.

Cuadro 91: Saturación del color de textiles teñidos con pigmentos obtenidos del microorganismo

R.

| Muestra | Saturación (%) | Promedio (%) |
|---------|----------------|--------------|
| 10 | 25.33 | 25.86 ±0.74 |
| | 25.62 | |
| | 25.96 | |
| | 24.97 | |
| | 27.07 | |
| | 26.23 | |
| 11 | 17.27 | 17.05 ±0.59 |
| | 16.15 | |
| | 17.03 | |
| | 16.60 | |
| | 17.71 | |
| 12 | 17.53 | 14.41 ±2.80 |
| | 13.93 | |
| | 11.86 | |
| | 12.95 | |
| | 12.99 | |
| | 13.45 | |
| 13 | 13.26 | 18.79 ±1.73 |
| | 20.60 | |
| | 16.25 | |
| | 20.20 | |
| | 18.41 | |
| | 17.38 | |
| 14 | 19.89 | 11.45 ±0.31 |
| | 11.58 | |
| | 11.65 | |
| | 10.90 | |
| | 11.72 | |

| Muestra | Saturación (%) | Promedio (%) |
|---------|----------------|--------------|
| | 11.27 | |
| | 11.57 | |
| | 15.92 | |
| | 17.39 | |
| 15 | 16.75 | 16.74 ±0.48 |
| | 16.78 | |
| | 16.97 | |
| | 16.65 | |
| | 22.01 | |
| | 21.72 | |
| 16 | 21.90 | 21.86 ±0.10 |
| | 21.79 | |
| | 21.84 | |
| | 21.90 | |
| | 21.05 | |
| | 19.57 | |
| 17 | 20.04 | 20.20 ±0.52 |
| | 20.19 | |
| | 29.85 | |
| | 20.51 | |
| | 23.44 | |
| | 23.27 | |
| 18 | 23.47 | 23.38 ±0.08 |
| | 23.34 | |
| | 23.34 | |
| | 23.43 | |
| | | |

Fuente: Elaboración propia

*Los pigmentos obtenidos y catalogados de 10 al 18 obtenidos del microorganismo R se pueden observar en la Figura 35 en Anexos y los textiles teñidos con los mismos en la Figura 38 en Anexos.

Cuadro 92: Saturación del color de textiles teñidos con pigmentos obtenidos del microorganismo

A.

| Muestra | Saturación (%) | Promedio (%) |
|---------|----------------|--------------|
| 19 | 20.48 | 21.06 ±0.41 |
| | 21.40 | |
| | 21.06 | |
| | 21.60 | |
| | 21.04 | |
| | 20.78 | |
| 20 | 22.67 | 23.50 ±0.79 |
| | 24.66 | |
| | 23.65 | |
| | 23.46 | |
| | 23.97 | |
| 21 | 22.59 | 25.52 ±0.17 |
| | 25.33 | |
| | 25.59 | |
| | 25.48 | |
| | 25.56 | |
| 22 | 25.36 | 22.55 ±1.12 |
| | 25.79 | |
| | 20.67 | |
| | 22.78 | |
| | 21.75 | |
| | 23.52 | |
| 23 | 23.41 | 24.91 ±0.12 |
| | 23.15 | |
| | 25.03 | |
| | 24.78 | |
| | 24.97 | |
| | 24.86 | |

| Muestra | Saturación (%) | Promedio (%) |
|---------|----------------|--------------|
| | 25.05 | |
| | 24.80 | |
| | 19.89 | |
| | 19.53 | |
| 24 | 19.05 | 19.57 ±0.50 |
| | 19.57 | |
| | 19.04 | |
| | 20.36 | |
| | 15.19 | |
| | 15.47 | |
| 25 | 14.76 | 14.88 ±0.39 |
| | 14.70 | |
| | 14.36 | |
| | 14.81 | |
| | 15.44 | |
| | 16.04 | |
| 26 | 15.27 | 15.75 ±0.63 |
| | 16.83 | |
| | 15.76 | |
| | 15.13 | |
| | 17.85 | |
| | 17.55 | |
| 27 | 17.58 | 17.62 ±0.11 |
| | 17.59 | |
| | 17.57 | |
| | 17.59 | |
| | 17.59 | |

Fuente: Elaboración propia

*Los pigmentos obtenidos y catalogados de 19 al 27 obtenidos del microorganismo A se pueden observar en la Figura 31 en Anexos y los textiles teñidos con los mismos en la Figura 37 en Anexos.

Cuadro 93: Saturación del color de textiles teñidos con pigmentos comerciales y de textil sin teñir.

| Muestra | Saturación (%) | Promedio (%) |
|---------------------------|----------------|--------------|
| | 3.06 | |
| | 3.26 | |
| Textil sin teñir (blanco) | 2.76 | 2.97 ±0.26 |
| | 3.29 | |
| | 2.81 | |
| | 2.68 | |
| | 93.76 | |
| | 93.81 | |
| Comercial Naranja | 93.80 | 93.58 ±0.46 |
| | 93.03 | |
| | 92.99 | |
| | 94.09 | |
| | 58.40 | |
| | 55.58 | |
| Comercial Amarillo | 56.27 | 56.73 ±0.95 |
| | 56.38 | |
| | 56.87 | |
| | 56.90 | |
| | 93.21 | |
| | 93.47 | |
| Comercial Verde | 93.02 | 93.17 ±0.29 |
| | 92.82 | |
| | 93.54 | |
| | 92.94 | |
| | | |

Fuente: Elaboración propia

*Los textiles teñidos con los mismos se pueden observar en la Figura 39 en Anexos.

Cuadro 94: Absorbancia máxima de pigmentos producidos variando concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfato de potasio por el microorganismo A.

| | Concentración | Longitud de onda (nm \pm 0.05) |
|----------------------|---------------|----------------------------------|
| Sacarosa | 10 g/L | 450 |
| | 20 g/L | 450 |
| | 30 g/L | 450 |
| Extracto de levadura | 1 g/L | 500 |
| | 2 g/L | 500 |
| | 3 g/L | 450 |
| Fosfato de potasio | 0.5 g/L | 600 |
| | 1.0 g/L | 600 |
| | 1.5 g/L | 450 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de los tres reactivos son las iniciales de cada fermentación realizada. Los espectros obtenidos a través de espectrofotometría UV/Vis para cada pigmento producido se pueden observar de la Figura 58 a la 66 en Anexos.

Cuadro 95: Absorbancia máxima de pigmentos producidos variando concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfato de potasio por el microorganismo N.

| | Concentración | Longitud de onda (nm \pm 0.05) |
|----------------------|---------------|----------------------------------|
| Sacarosa | 10 g/L | 500 |
| | 20 g/L | 500 |
| | 30 g/L | 500 |
| Extracto de levadura | 1 g/L | 450 |
| | 2 g/L | 500 |
| | 3 g/L | 500 |
| Fosfato de potasio | 0.5 g/L | 450 |
| | 1.0 g/L | 500 |
| | 1.5 g/L | 500 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de los tres reactivos son las iniciales de cada fermentación realizada. Los espectros obtenidos a través de espectrofotometría UV/Vis para cada pigmento producido se pueden observar de la Figura 40 a la 48 en Anexos.

Cuadro 96: Absorbancia máxima de pigmentos producidos variando concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfato de potasio por el microorganismo R.

| | Concentración | Longitud de onda (nm \pm 0.05) |
|----------------------|---------------|----------------------------------|
| Sacarosa | 10 g/L | 450 |
| | 20 g/L | 450 |
| | 30 g/L | 500 |
| Extracto de levadura | 1 g/L | 450 |
| | 2 g/L | 450 |
| | 3 g/L | 500 |
| Fosfato de potasio | 0.5 g/L | 500 |
| | 1.0 g/L | 450 |
| | 1.5 g/L | 500 |

Fuente: Elaboración propia

*Pigmentos obtenidos en fermentaciones a 37 °C y 150 rpm durante una semana. Las concentraciones indicadas de los tres reactivos son las iniciales de cada fermentación realizada. Los espectros obtenidos a través de espectrofotometría UV/Vis para cada pigmento producido se pueden observar de la Figura 49 a la 57 en Anexos.

C. Cálculos de muestra

Cálculo 1. Cantidad de agar tripticasa soya a utilizar para aislamiento de cepas microbianas del suelo.

Utilizando la ecuación 1:

$$\text{mL de agar tripticasa soya a preparar} * \frac{40 \text{ g agar tripticasa soya}}{1000 \text{ mL agua destilada}} = \text{g de agar tripticasa soya}$$

Ejemplo:

$$100 \text{ mL de agar tripticasa soya} * \frac{40 \text{ g de agar tripticasa soya}}{1000 \text{ mL agua destilada}} = 4 \text{ g de agar tripticasa soya}$$

Este cálculo se realizó para obtener la cantidad de agar tripticasa soya necesaria para preparar 100 mL de agar indicado en los datos del reactivo utilizado (Ver Cuadro 97 en Anexos) y utilizarlo durante el aislamiento de las cepas microbianas del suelo.

Cálculo 2. Cantidad de caldo nutritivo a utilizara para la preparación de inóculos.

Utilizando la ecuación 2:

$$\text{mL de caldo nutritivo a preparar} * \frac{8 \text{ g de caldo nutritivo}}{1000 \text{ mL agua destilada}} = \text{g de caldo nutritivo}$$

Ejemplo:

$$50 \text{ mL de caldo nutritivo} * \frac{8 \text{ g de caldo nutritivo}}{1000 \text{ mL agua destilada}} = 0.4 \text{ g de caldo nutritivo}$$

Este cálculo se realizó para obtener la cantidad de caldo nutritivo necesario para preparar 50 mL de agar indicado en los datos del reactivo utilizado (Ver Cuadro 98 en Anexos) y utilizarlo durante la preparación de inóculos de las cepas microbianas aisladas.

Cálculo 3. Densidad óptica a 600 nm suavizada para la construcción de curva de crecimiento de microorganismos variando las concentraciones de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Utilizando la ecuación 3:

$$OD_n = \frac{OD_n + OD_{n+1}}{2}$$

En donde:

OD_n = Densidad óptica a 600 nm en un tiempo establecido.

OD_{n+1} = Densidad óptica a 600 nm en el siguiente tiempo medido.

Ejemplo:

$$OD_n = \frac{0.0034 + 0.0081}{2} = 0.0058$$

Se utilizaron los datos de los cuadros del 11 al 19. Se repitió el cálculo para cada set de datos para cada microorganismo variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Cálculo 4. Pigmento producido en gramos por los microorganismos A, N y R variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Utilizando la ecuación 4:

$$\text{Pigmento producido (g)} = \text{Contenedor + pigmento (g)} - \text{Contenedor (g)}$$

Ejemplo:

$$\text{Pigmento producido (g)} = 11.567 \text{ g} - 11.454 \text{ g} = 0.113 \text{ g}$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 54 a 62. Se repitió el cálculo para cada set de datos para cada microorganismo variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Cálculo 5. Pigmento producido en mg/mL por los microorganismos A, N y R variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Utilizando la ecuación 5:

$$\text{Pigmento producido (mg/mL)} = \frac{\text{Pigmento producido (g)}}{10 \text{ mL de muestra evaporada}} * \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}}$$

Ejemplo:

$$\text{Pigmento producido (mg/mL)} = \frac{0.113}{10 \text{ mL de muestra evaporada}} * \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = 11.3 \text{ mg/mL}$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 54 a 62. Se repitió el cálculo para cada set de datos para cada microorganismo variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Cálculo 6. Promedio de pigmento producido en mg/mL por los microorganismos A, N y R variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Utilizando la ecuación 6:

$$\text{Pigmento producido (mg/mL)} = \frac{\text{Pigmento 1er. triplicado } \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right) + \text{Pigmento 2do triplicado } \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right) + \text{Pigmento 3er. triplicado } \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right)}{3}$$

Ejemplo:

$$\text{Pigmento producido (mg/mL)} = \frac{11.3 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} + 8.9 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} + 10.8 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}}{3} = 10.3 \text{ mg/mL}$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 63 a 71. Se repitió el cálculo para cada set de datos para cada microorganismo variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Cálculo 7. Biomasa obtenida en gramos por los microorganismos A, N y R variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Utilizando la ecuación 7:

$$\text{Biomasa obtenida (g)} = \text{Contenedor} + \text{biomasa (g)} - \text{Contenedor (g)}$$

Ejemplo:

$$\text{Biomasa obtenida (g)} = 10.633 \text{ g} - 10.606 \text{ g} = 0.027 \text{ g}$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 72 a 80. Se repitió el cálculo para cada set de datos para cada microorganismo variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Cálculo 8. Biomasa obtenida en mg/mL por los microorganismos A, N y R variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Utilizando la ecuación 8:

$$\text{Biomasa obtenida (mg/mL)} = \frac{\text{Biomasa obtenida (g)}}{150 \text{ mL de fermentación}} * \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}}$$

Ejemplo:

$$\text{Biomasa obtenida (mg/mL)} = \frac{0.027 \text{ g}}{150 \text{ mL de fermentación}} * \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} = 0.18 \text{ mg/mL}$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 72 a 80. Se repitió el cálculo para cada set de datos para cada microorganismo variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Cálculo 9. Promedio de biomasa obtenida en mg/mL por los microorganismos A, N y R variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Utilizando la ecuación 9:

$$\text{Biomasa obtenida } \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right) = \frac{a \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right) + b \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right) + c \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right)}{3}$$

En donde:

a = biomasa obtenida del primer triplicado $\left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right)$

b = biomasa obtenida del segundo triplicado $\left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right)$

c = biomasa obtenida del tercer triplicado $\left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}}\right)$

Ejemplo:

$$\text{Biomasa obtenida (mg/mL)} = \frac{0.18 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} + 1.33 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} + 0.63 \frac{\text{mg}}{\text{mL}}}{3} = 0.71 \text{ mg/mL}$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 81 a 89. Se repitió el cálculo para cada set de datos para cada microorganismo variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Cálculo 10. Saturación del color por muestra de textiles teñidos con pigmentos microbianos, comerciales y del textil sin teñir con datos obtenidos a partir de histogramas de Adobe Photoshop.

Utilizando la ecuación 10:

$$\text{Saturación (\%)} = \sqrt{\frac{(L - R)^2 + (L - G)^2 + (L - B)^2}{3}}$$

En donde:

L: Luminiscencia

R: Color rojo del histograma

G: Color verde del histograma

B: Color azul del histograma

Ejemplo:

$$\text{Saturación (\%)} = \sqrt{\frac{(135.86 - 148.78)^2 + (135.86 - 135.47)^2 + (135.86 - 103.76)^2}{3}} = 19.98\%$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 90 al 93. Se repitió el cálculo para cada set de datos las fotografías de cada muestra teñida con los pigmentos microbianos, comerciales y el textil sin teñir.

Cálculo 11. Promedio de saturación del color por muestra de textiles teñidos con pigmentos microbianos, comerciales y del textil sin teñir con datos obtenidos a partir de histogramas de Adobe Photoshop.

Utilizando la ecuación 11:

$$\text{Saturación (\%)} = \frac{\% \text{ saturación fotografía 1} + \dots + \% \text{ saturación fotografía 6}}{6}$$

Ejemplo:

$$\text{Saturación (\%)} = \frac{19.98\% + 20.11\% + 19.75\% + 19.84\% + 19.92\% + 20.19\%}{6} = 19.96\%$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 90 al 93. Se repitió el cálculo para cada muestra teñida con los pigmentos microbianos, comerciales y el textil sin teñir.

D. Análisis de error

Cálculo 12. Propagación de error de pigmento producido en g de cada triplicado por los microorganismos A, N y R variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Considerando la propagación de error de una resta entre valores experimentales y utilizando la ecuación 12:

$$\delta q = \delta x + \delta y$$

Ejemplo:

$$\delta \text{PP (g)} = (\pm 5 \times 10^{-4} \text{ g}) + (\pm 5 \times 10^{-4} \text{ g}) = \pm 0.001 \text{ g}$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 54 a 62. Se repitió el cálculo para cada set de datos para cada microorganismo variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Cálculo 13. Propagación de error de pigmento producido en mg/mL de cada triplicado por los microorganismos A, N y R variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Considerando la propagación de error de una división entre los valores experimentales y utilizando la ecuación 13:

$$\delta q = |q| * \left(\frac{\delta x}{|x|} \right) + \left(\frac{\delta y}{|y|} \right)$$

Ejemplo:

$$\delta \text{PP} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \left| 11.3 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right| * \left(\frac{\pm 0.001 \text{ g}}{|0.113|} \right) + \left(\frac{\pm 0.5 \text{ mL}}{|10 \text{ mL}|} \right) = \pm 0.665 \text{ mg/mL}$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 54 a 62. Se repitió el cálculo para cada set de datos para cada microorganismo variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Cálculo 14. Error estadístico de pigmento producido en mg/mL por los microorganismos A, N y R variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Utilizando la ecuación 14:

$$\text{Error estadístico} = 3s = 3 * \sqrt{\frac{\sum_i^n (X_i - \bar{X})^2}{N}}$$

Ejemplo:

$$\begin{aligned} \text{Error estadístico} &= 3 * \sqrt{\frac{(11.3 - 10.3)^2 + (8.9 - 10.3)^2 + (10.8 - 10.3)^2}{3}} \text{ mg/mL} \\ &= \pm 1.3 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 63 a 71. Se repitió el cálculo para cada set de datos para cada microorganismo variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Cálculo 15. Propagación de error de biomasa obtenida en g de cada triplicado por los microorganismos A, N y R variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Considerando la propagación de error de una resta entre valores experimentales y utilizando la ecuación 12:

$$\delta q = \delta x + \delta y$$

Ejemplo:

$$\delta \text{BO (g)} = (\pm 5 \times 10^{-4} \text{ g}) + (\pm 5 \times 10^{-4} \text{ g}) = \pm 0.001 \text{ g}$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 72 a 80. Se repitió el cálculo para cada set de datos para cada microorganismo variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Cálculo 16. Propagación de error de biomasa obtenida en mg/mL de cada triplicado por los microorganismos A, N y R variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Considerando la propagación de error de una división entre los valores experimentales y utilizando la ecuación 13:

$$\delta q = |q| * \left(\frac{\delta x}{|x|} \right) + \left(\frac{\delta y}{|y|} \right)$$

Y los datos de los cuadros, se obtiene:

$$\delta \text{BO} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \left| 0.18 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right| * \left(\frac{\pm 0.001 \text{ g}}{|0.027|} \right) + \left(\frac{\pm 2 \text{ mL}}{|150 \text{ mL}|} \right) = \pm 0.010 \text{ mg/mL}$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 72 a 80. Se repitió el cálculo para cada set de datos para cada microorganismo variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Cálculo 17. Error estadístico de biomasa obtenida en mg/mL por los microorganismos A, N y R variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Utilizando la ecuación 14:

$$\text{Error estadístico} = 3s = 3 * \sqrt{\frac{\sum_i^n (X_i - \bar{X})^2}{N}}$$

Ejemplo:

$$\begin{aligned} \text{Error estadístico} &= 3 * \sqrt{\frac{(0.18 - 0.71)^2 + (1.33 - 0.71)^2 + (0.63 - 0.71)^2}{3}} \text{ mg/mL} \\ &= \pm 0.58 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 81 a 89. Se repitió el cálculo para cada set de datos para cada microorganismo variando la concentración de sacarosa, extracto de levadura y fosfatos de potasio monobásico.

Cálculo 18. Error estadístico de saturación del color por muestra de textiles teñidos con pigmentos microbianos, comerciales y del textil sin teñir con datos obtenidos a partir de histogramas de Adobe Photoshop.

Utilizando la ecuación 14:

$$\text{Error estadístico} = 3s = 3 * \sqrt{\frac{\sum_i^n (X_i - \bar{X})^2}{N}}$$

Ejemplo:

Error estadístico

$$= 3 * \sqrt{\frac{(19.98 - 19.96)^2 + (20.11 - 19.96)^2 + (19.75 - 19.96)^2 + (19.84 - 19.96)^2 + (19.92 - 19.96)^2 + (20.19 - 19.96)^2}{6}} \% \\ = \pm 0.16 \text{ mg/mL}$$

Se utilizaron los datos de los cuadros 90 al 93. Se repitió el cálculo para cada muestra teñida con los pigmentos microbianos, comerciales y el textil sin teñir.

E. Datos de reactivos utilizados

Cuadro 97: Datos de agar tripticasa soya usado en el aislamiento de cepas microbianas del suelo.

| | |
|----------------------------------------|----------------------|
| Reactivo | Agar tripticasa soya |
| Marca | Millipore |
| Condiciones de preparación (g/L) | 40 |
| pH a 25 °C | 7.1-7.5 |
| Densidad aparente (kg/m ³) | 620 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 98: Datos de caldo nutritivo usado en preparación de inóculos.

| | |
|----------------------------------------|-----------------|
| Reactivo | Caldo nutritivo |
| Marca | Merck |
| Condiciones de preparación (g/L) | 8 |
| pH a 25 °C | 7 |
| Densidad aparente (kg/m ³) | 470 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 99: Datos de extracto de levadura usado en la formulación de medios de cultivo.

| | |
|----------------------------------------|--------------------------------|
| Reactivo | Extracto de levadura granulado |
| Marca | Merck |
| pH | 5.5-7.2 |
| Densidad aparente (kg/m ³) | 490 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 100: Datos de fosfatos de potasio monobásico usado en la formulación de medios de cultivo.

| | |
|-------------------------------|--------------------------------|
| Reactivo | Fosfatos de potasio monobásico |
| Marca | Jost Chemical Co. |
| Masa molecular (g/mol) | 136.09 |
| Densidad (kg/m ³) | 2338 |
| pH | 4.5 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 101: Datos de cloruro de sodio usado en la formulación de medios de cultivo.

| | |
|------------------------------------|------------------|
| Reactivo | Cloruro de sodio |
| Marca | Merck |
| Masa molecular (g/mol) | 58.44 |
| Densidad (kg/m³) | 2170 |
| pH | 7 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 102: Datos de sulfato de amonio usado en la formulación de medios de cultivo.

| | |
|------------------------------------|-------------------|
| Reactivo | Sulfato de amonio |
| Marca | Merck |
| Masa molecular (g/mol) | 132.14 |
| Densidad (kg/m³) | 1770 |
| pH | 5-6 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 103: Datos de sulfato de magnesio usado en la formulación de medios de cultivo.

| | |
|------------------------------------|------------------------------------|
| Reactivo | Sulfato de magnesio heptahidratado |
| Marca | Merck |
| Masa molecular (g/mol) | 246.5 |
| Densidad (kg/m³) | 1680 |
| pH | 5-8 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 104: Datos de cloroformo usado en la extracción de los pigmentos producidos.

| | |
|------------------------------------|------------|
| Reactivo | Cloroformo |
| Marca | Merck |
| Masa molecular (g/mol) | 119.38 |
| Densidad (kg/m³) | 1490 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 105: Datos de éter usado en la extracción de los pigmentos producidos.

| | |
|------------------------------------|----------------|
| Reactivo | Éter dietílico |
| Marca | Merck |
| Masa molecular (g/mol) | 74.12 |
| Densidad (kg/m³) | 710 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 106: Datos de acetona usado en la extracción de los pigmentos producidos.

| | |
|------------------------------------|---------------|
| Reactivo | Acetona |
| Marca | Sigma Aldrich |
| Masa molecular (g/mol) | 58.08 |
| Densidad (kg/m³) | 784 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 107: Datos de metanol usado en la extracción de los pigmentos producidos.

| | |
|------------------------------------|---------------|
| Reactivo | Metanol |
| Marca | Sigma Aldrich |
| Masa molecular (g/mol) | 32.04 |
| Densidad (kg/m³) | 792 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 108: Datos de anilina naranja usada en la extracción de los pigmentos producidos.

| | |
|--------------------------------------------------|--------------------|
| Reactivo | Anilina naranja |
| Marca | Yacolor |
| Tipo de tinción | En frío o caliente |
| Tiempo de tinción requerido | 30- 45 minutos |
| Reactivo adicional necesario para tinción | Cloruro de sodio |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 109: Datos de anilina amarilla usada en la extracción de los pigmentos producidos.

| | |
|--------------------------------------------------|-----------------------------|
| Reactivo Marca | Anilina amarilla Yacolor |
| Tipo de tinción | En frío o caliente |
| Tiempo de tinción requerido | 30- 45 minutos |
| Reactivo adicional necesario para tinción | Cloruro de sodio |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 110: Datos de anilina verde usada en la extracción de los pigmentos producidos.

| | |
|--------------------------------------------------|--------------------------|
| Reactivo Marca | Anilina verde Yacolor |
| Tipo de tinción | En frío o caliente |
| Tiempo de tinción requerido | 30- 45 minutos |
| Reactivo adicional necesario para tinción | Cloruro de sodio |

Fuente: Elaboración propia.

F. Especificaciones de los equipos utilizados

Cuadro 111: Datos de balanza usada en aislamiento de cepas microbianas del suelo, preparación de inóculos, extracción de pigmentos producidos y comparación de funcionamiento de pigmentos.

| | |
|-----------------------------|---------|
| Equipo | Balanza |
| Marca | OHAUS |
| Modelo | TS4000 |
| Capacidad mínima (g) | 0.1 |
| Capacidad máxima (g) | 4000 |
| Incertidumbre (g) | ±0.05 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 112: Datos de estufa usada en aislamiento de cepas microbianas del suelo, preparación de inóculos, formulación de medios de cultivo y comparación de funcionamiento de pigmentos.

| | |
|-------------------------|-------------------|
| Equipo | Estufa |
| Marca | Thermo Scientific |
| Modelo | Cimarec + |
| Temperatura (°C) | 0-540 |
| Agitación (RPM) | 50-1500 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 113: Datos de autoclave usada en aislamiento de cepas microbianas del suelo, preparación de inóculos y formulación de medios de cultivo.

| | |
|----------------------------------------|-----------|
| Equipo | Autoclave |
| Marca | Napco |
| Modelo | 8000 |
| Temperatura (°C) | 121-132 |
| Uniformidad de temperatura (°C) | ±0.5 |
| Presión (bar) | 1-1.9 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 114: Datos de campana de extracción usada en aislamiento de cepas microbianas del suelo, preparación de inóculos y fermentación para producción de pigmentos microbianos.

| | |
|------------------------------|-----------------------|
| Equipo | Campana de extracción |
| Marca | Labconco |
| Catálogo | 36 |
| Número de serie | 070469118 |
| Ciclo | 60 |
| Amperaje (A) | 12 |
| Voltaje (V) | 115 |
| Presión máxima (psig) | 30 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 115: Datos de incubadora usada en aislamiento de cepas microbianas del suelo, preparación de inóculos y fermentación para producción de pigmentos microbianos.

| | |
|-------------------------|--------------------------|
| Equipo | Incubadora |
| Marca | New Brunswick Scientific |
| Serie | 25 |
| Temperatura (°C) | 0-100 |
| Agitación (RPM) | 0-500 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 116: Datos de balanza analítica usada en formulación de medios de cultivo, extracción de los pigmentos producidos y evaluación de rendimiento de la producción de pigmento.

| | |
|-----------------------------|-------------------|
| Equipo | Balanza analítica |
| Marca | OHAUS |
| Modelo | Pioneer |
| Capacidad mínima (g) | 0.001 |
| Capacidad máxima (g) | 160 |
| Incertidumbre (g) | ±0.0005 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 117: Datos de espectrofotómetro UV/VIS usado en determinación de crecimiento microbiano durante la fermentación y determinación de máxima absorción del pigmento producido.

| | |
|------------------------------|--------------------------|
| Equipo | Espectrofotómetro UV/VIS |
| Marca | Shimadzu |
| Modelo | UV mini 1240 |
| Longitud de onda (nm) | 190-1100 |
| Incertidumbre (nm) | ±0.003 nm |
| Voltaje (V) | 120 |
| Frecuencia (Hz) | 60 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 118: Datos de centrífuga usada en extracción de pigmentos producidos.

| | |
|-------------------------------|------------|
| Equipo | Centrífuga |
| Marca | Sorvall |
| Modelo | RT-7 |
| Capacidad máxima (L) | 1 |
| Velocidad máxima (RPM) | 7000 |
| Potencia (W) | 1400 |
| Voltaje (V) | 115 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 119: Datos de horno usado en extracción de pigmentos producidos y en evaluación de rendimiento de la producción de pigmento.

| | |
|-------------------------|----------|
| Equipo | Horno |
| Marca | VWR |
| Modelo | Symphony |
| Temperatura (°C) | 0-320 |
| Voltaje (V) | 120 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 120: Datos de vortex usado en extracción de pigmentos producidos.

| | |
|------------------|--------------------|
| Equipo | Vortex |
| Marca | Fischer Scientific |
| Velocidad | 1-10 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 121: Datos de refrigeradora para almacenamiento de muestras obtenidas.

| | |
|----------------------------|----------------|
| Equipo | Refrigeradora |
| Marca | Mabe |
| Modelo | RM44W04 |
| Tipo de congelación | Semiautomático |
| Legibilidad (g) | 0.0001 |

Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 122: Datos de cámara usada en medición de la saturación del color.

| | |
|----------------------------------|--------------|
| Equipo | Cámara |
| Marca | Nikon |
| Modelo | CoolPix P510 |
| Aumento óptico | 42x |
| Resolución (mega pixeles) | 16.1 |

Fuente: Elaboración propia.

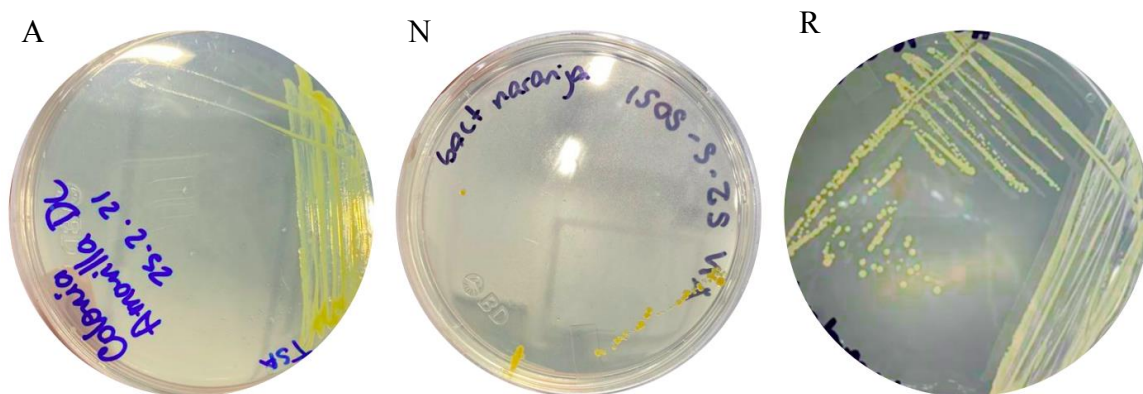
Cuadro 123: Datos de densitómetro usado en medición de la saturación del color.

| | |
|-----------------------------|-----------------|
| Equipo | Densitómetro |
| Marca | X-rite |
| Modelo | Exact Basic |
| Apertura | 4 mm, 2 mm |
| Rango de densidad | 0.0 D- 3.0 D |
| Rango de temperatura | 10 a 35 °C |
| Tiempo de medición | < 1 s |
| Intervalo espectral | 400 nm a 700 nm |

Fuente: Elaboración propia.

G. Microorganismos utilizados

Figura 30: Cajas de Petri con colonias microbianas utilizadas a lo largo de la experimentación.



*Microorganismos A, N y R, de izquierda a derecha respectivamente.

Cuadro 124: Caracterización morfológica de colonias microbianas utilizadas a lo largo de la experimentación.

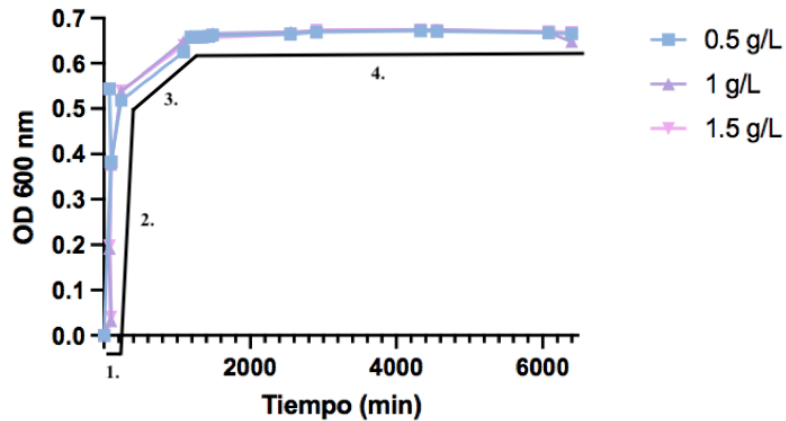
| Características | Microorganismo | | |
|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| | A | N | R |
| Forma | Circular | Circular | Circular |
| Color | Amarilla | Naranja | Amarilla |
| Elevación | Convexa | Elevada | Convexa |
| Margen/Borde | Entero | Entero | Entero |
| Superficie | Suave y brillante | Suave y brillante | Suave y brillante |
| Opacidad | Clara | Clara | Clara |
| Textura | Húmeda y viscosa | Húmeda | Húmeda |

Fuente: Elaboración propia.

*Las características morfológicas de cada microorganismo evaluado se observaron sobre placas de agar tripticosa soya incubadas a 37°C durante 15 días bajo un estereoscopio tras su aislamiento completo. Se utilizó la guía redactada por Reynolds, 2019 para la caracterización.

H. Fases de curvas de crecimiento

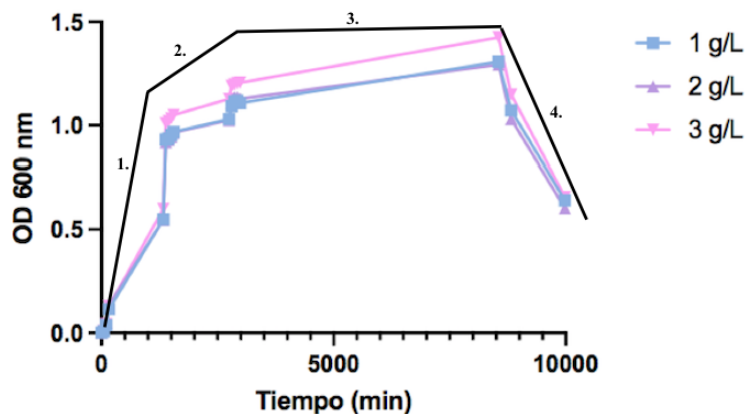
Figura 31: Fases de la curva de crecimiento del microorganismo A en las formulaciones 7, 8, 9, para las cuales se varió la concentración de fosfatos de potasio monobásico (Figura 5 en sección de Resultados).



Fuente: Elaboración propia.

*El número 1 corresponde a fase Lag, el número 2 corresponde a fase exponencial, el número 3 corresponde a fase de desaceleración y el número 4 corresponde a fase estacionaria. Las curvas de crecimiento representadas como Figuras 13, 19, 20 y 21 en Resultados presentan las mismas fases.

Figura 32: Fases de la curva de crecimiento del microorganismo A en las formulaciones 4, 5, 6, para las cuales se varió la concentración de extracto de levadura (Figura 4 en sección de Resultados).

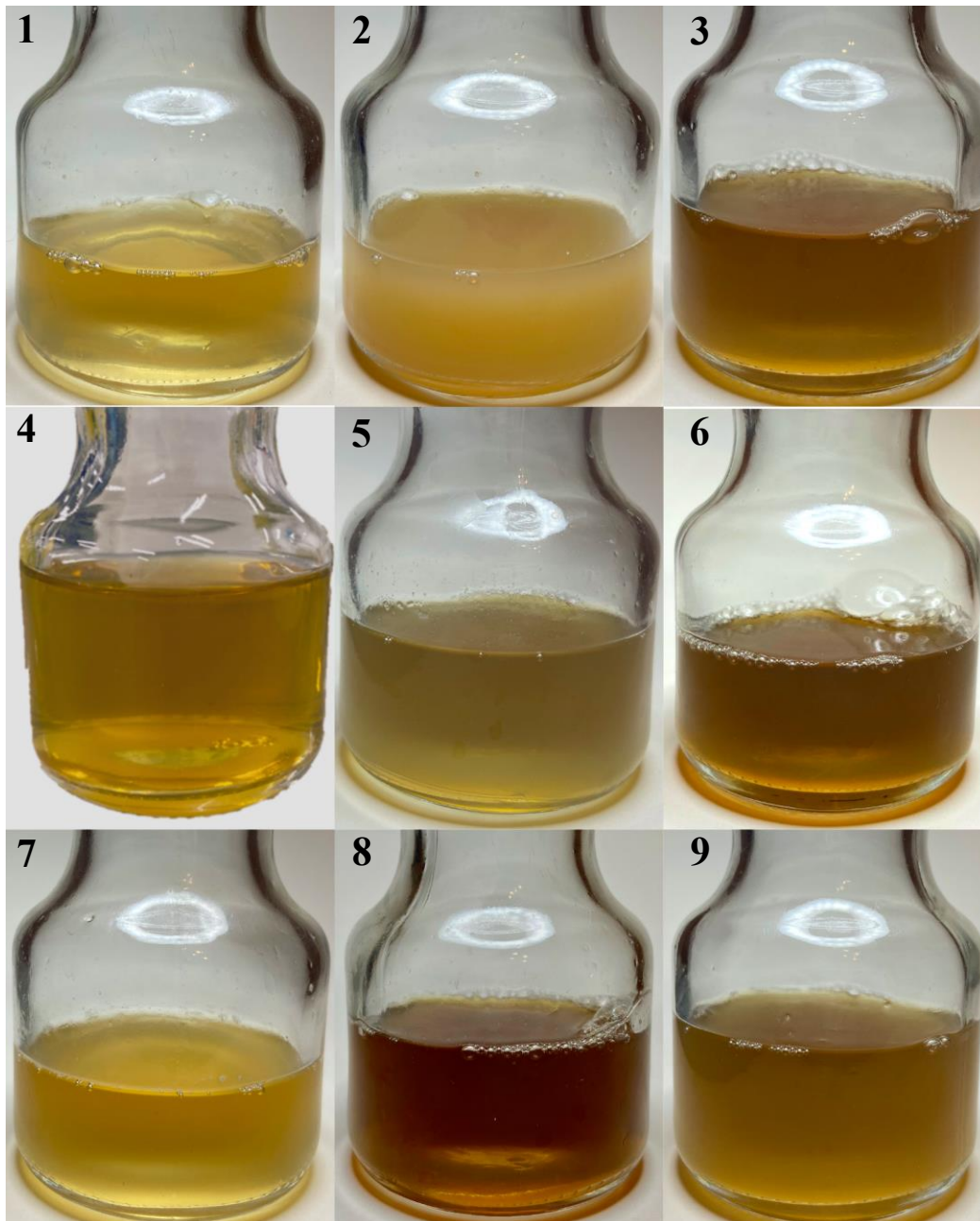


Fuente: Elaboración propia.

*El número 1 corresponde a fase exponencial, el número 2 corresponde a fase de desaceleración, el número 3 corresponde a fase estacionaria y el número 4 corresponde a fase de muerte. La curva de crecimiento representada como Figura 12 en Resultados presenta las mismas fases.

I. Pigmentos producidos

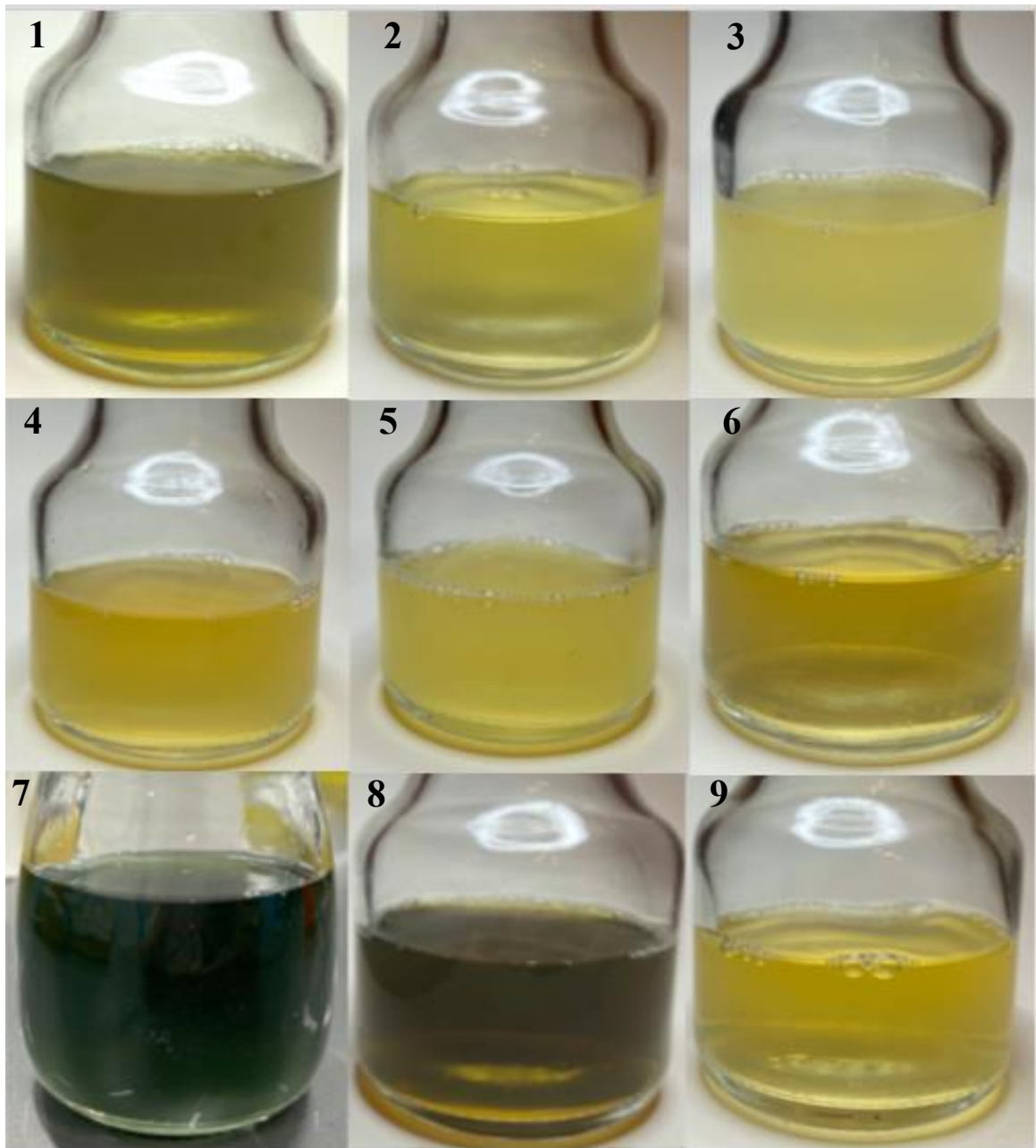
Figura 33: Pigmentos producidos por el microorganismo N en las nueve formulaciones desarrolladas.



Fuente: Elaboración propia.

*La primera fila de fotografías son los pigmentos obtenidos de las formulaciones 1-3, la segunda fila los obtenidos de las formulaciones 4-6 y la tercera fila los obtenidos de las formulaciones 7-9.

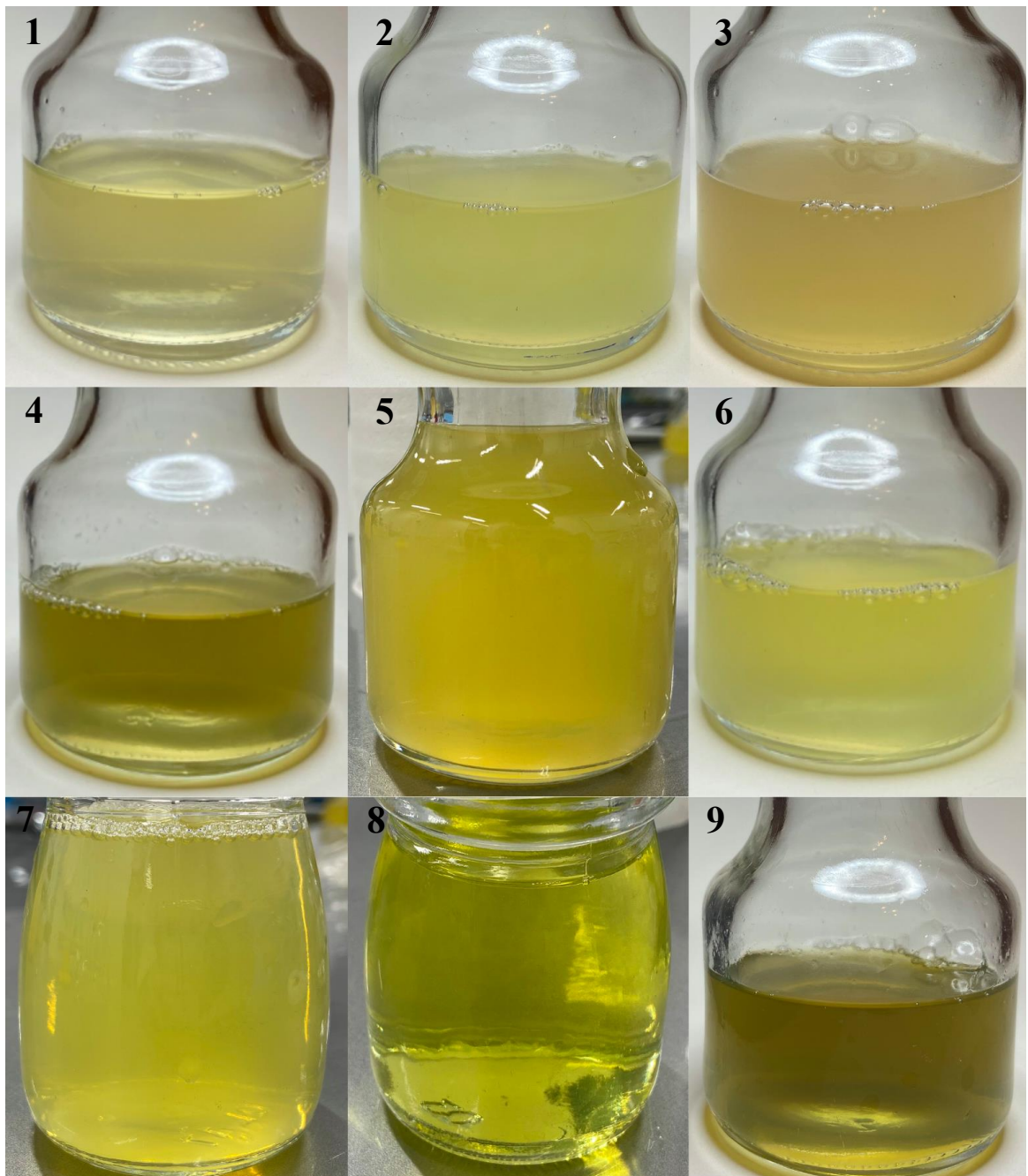
Figura 34: Pigmentos producidos por el microorganismo A en las nueve formulaciones desarrolladas.



Fuente: Elaboración propia.

*La primera fila de fotografías son los pigmentos obtenidos de las formulaciones 1-3, la segunda fila los obtenidos de las formulaciones 4-6 y la tercera fila los obtenidos de las formulaciones 7-9.

Figura 35: Pigmentos producidos por el microorganismo R en las nueve formulaciones desarrolladas.



Fuente: Elaboración propia.

*La primera fila de fotografías son los pigmentos obtenidos de las formulaciones 1-3, la segunda fila los obtenidos de las formulaciones 4-6 y la tercera fila los obtenidos de las formulaciones 7-9.

J. Textiles teñidos

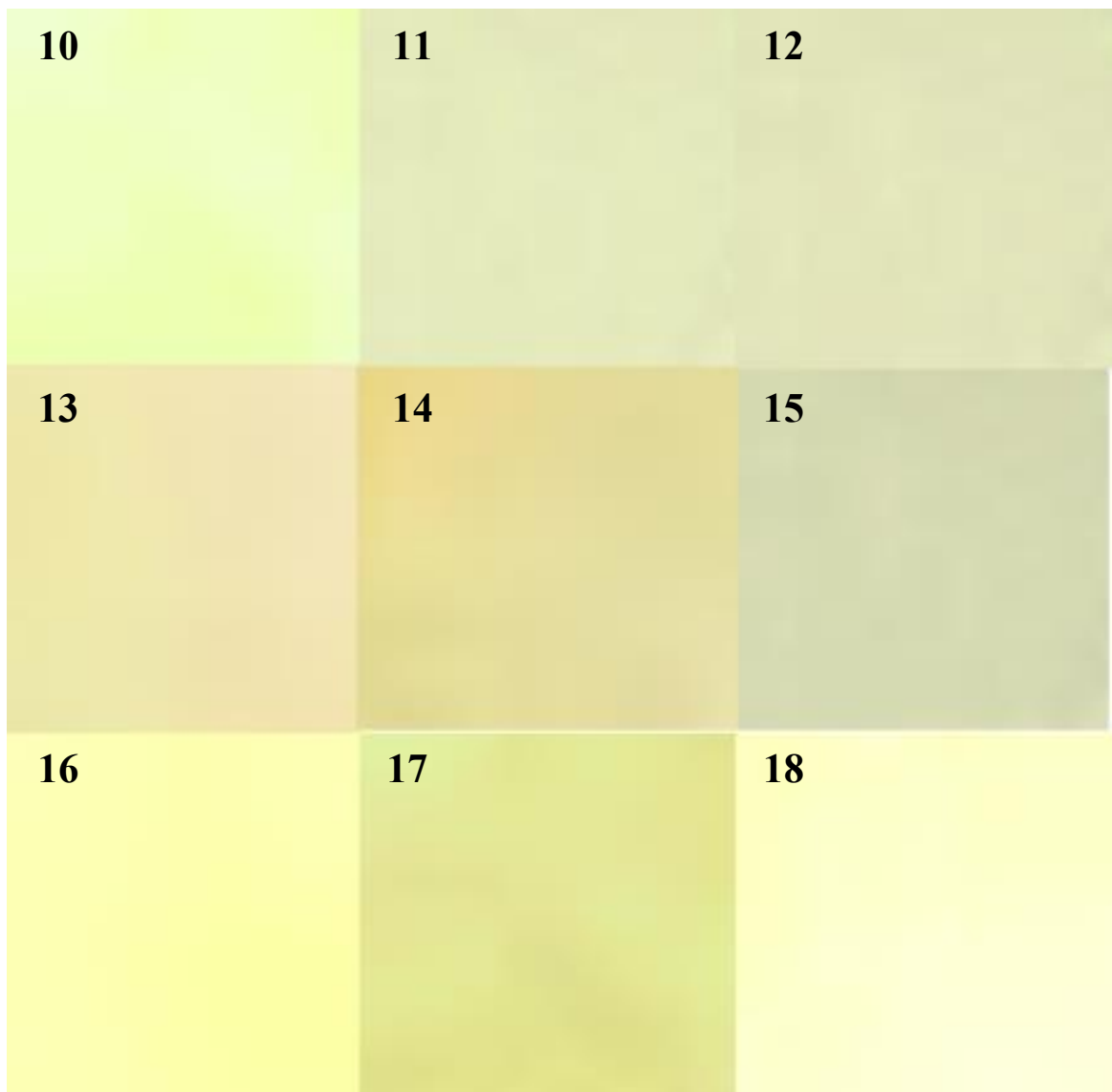
Figura 36: Muestras de textiles teñidos con pigmentos producidos por el microorganismo N en las nuevas formulas desarrolladas.



Fuente: Elaboración propia.

*Las muestras 1-9 fueron teñidas con los pigmentos obtenidos del microorganismo N.

Figura 37: Muestras de textiles teñidos con pigmentos producidos por el microorganismo R en las nueva formulas desarrolladas.



Fuente: Elaboración propia.

*Las muestras 10-18 fueron teñidas con los pigmentos obtenidos del microorganismo R.

Figura 38: Muestras de textiles teñidos con pigmentos producidos por el microorganismo A en las nueva formulas desarrolladas.



Fuente: Elaboración propia.

*Las muestras 19-27 fueron teñidas con los pigmentos obtenidos del microorganismo A.

Figura 39: Muestras de textiles teñidos con pigmentos comerciales y textil sin teñir (blanco).

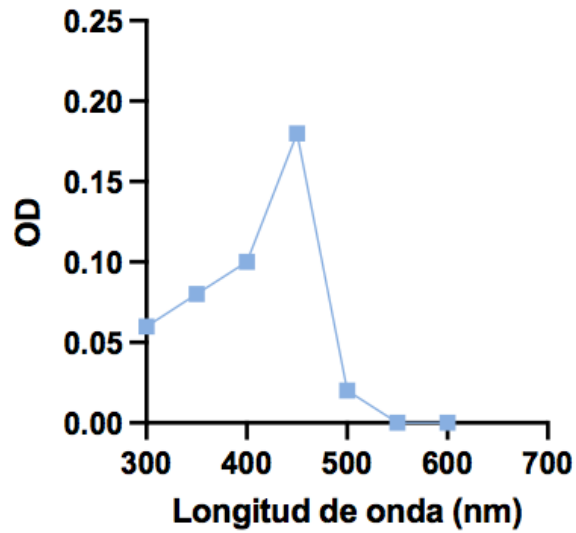


Fuente: Elaboración propia.

*Textiles teñidos con pigmentos comerciales amarillo, verde y naranja y textil sin teñir (blanco) de izquierda a derecha, respectivamente.

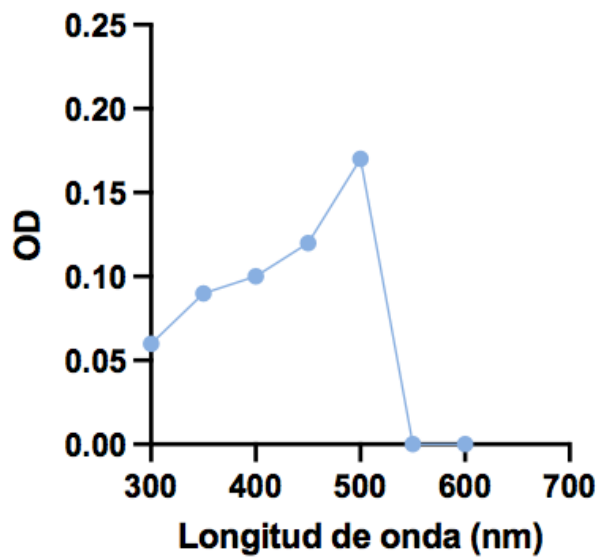
K. Espectros a partir de espectrofotometría UV/VIS de cada pigmento producido

Figura 40: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 1 producido por el microorganismo N.



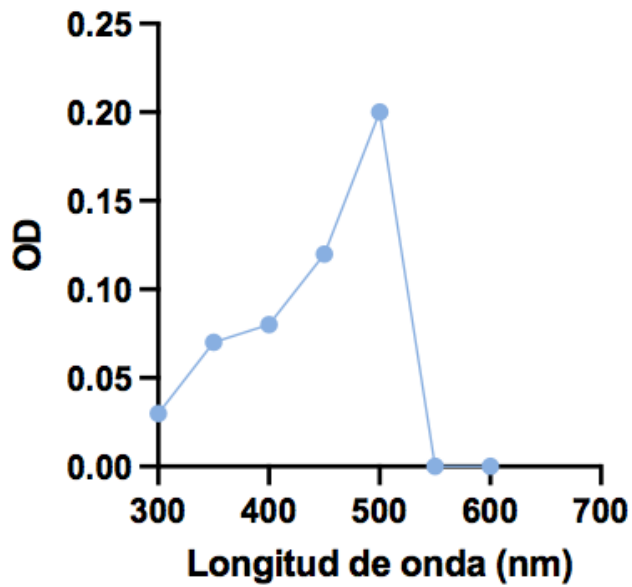
Fuente: Elaboración propia.

Figura 41: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 2 producido por el microorganismo N.



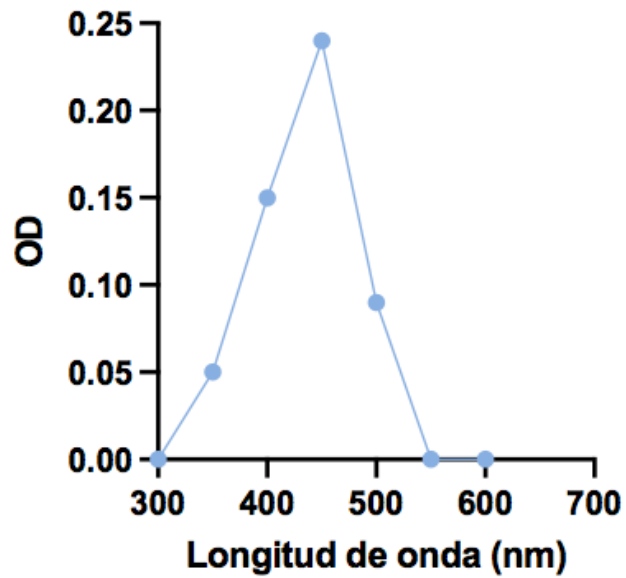
Fuente: Elaboración propia.

Figura 42: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 3 producido por el microorganismo N.



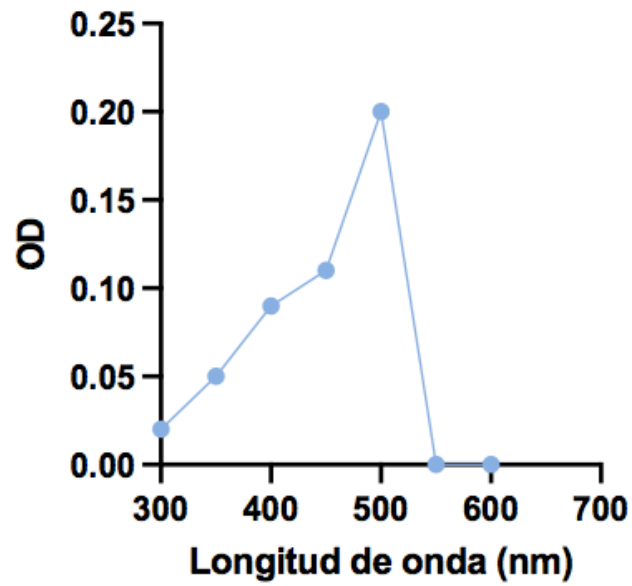
Fuente: Elaboración propia.

Figura 43: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 4 producido por el microorganismo N.



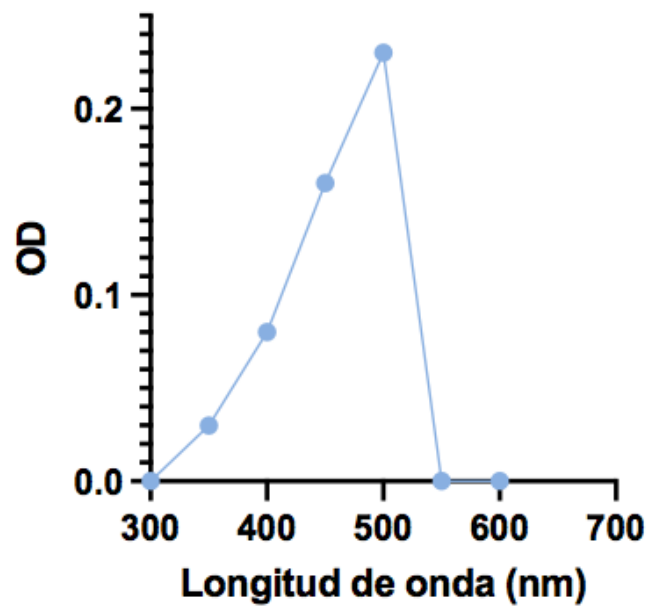
Fuente: Elaboración propia.

Figura 44: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 5 producido por el microorganismo N.



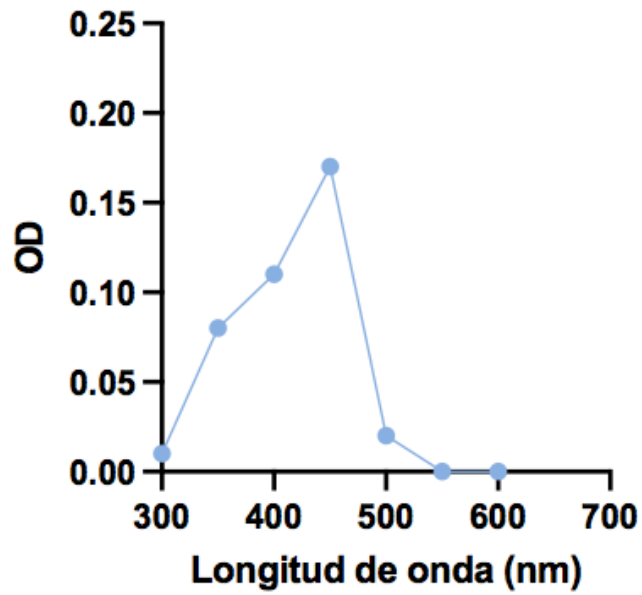
Fuente: Elaboración propia.

Figura 45: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 6 producido por el microorganismo N.



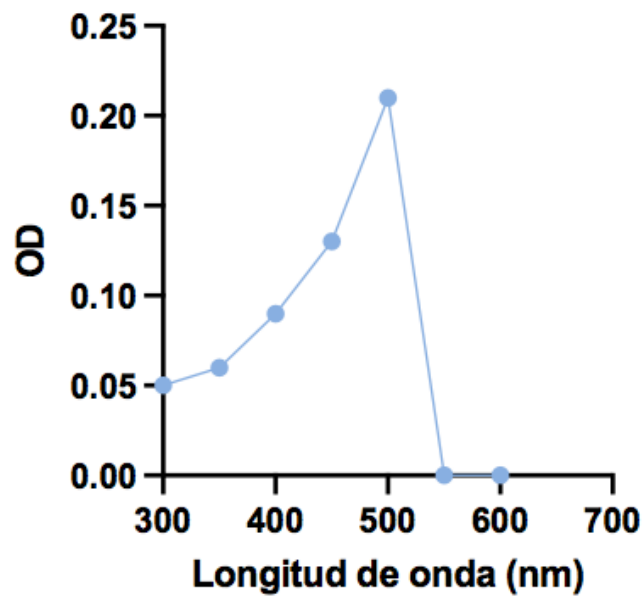
Fuente: Elaboración propia.

Figura 46: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 7 producido por el microorganismo N.



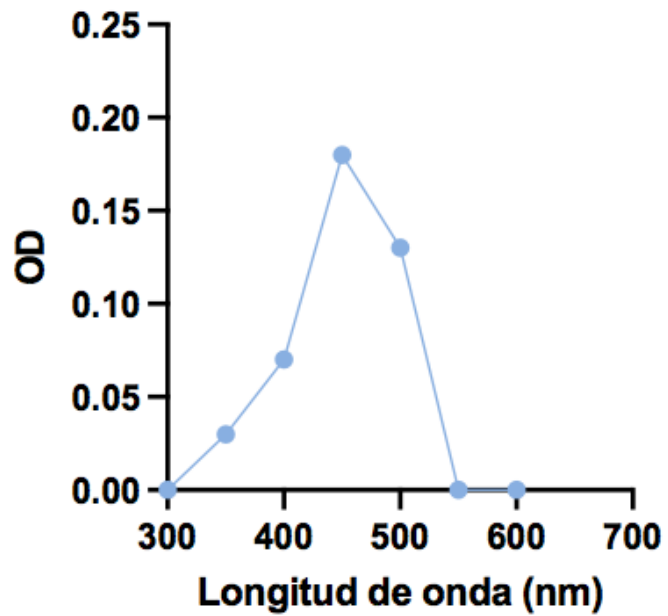
Fuente: Elaboración propia.

Figura 47: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 8 producido por el microorganismo N.



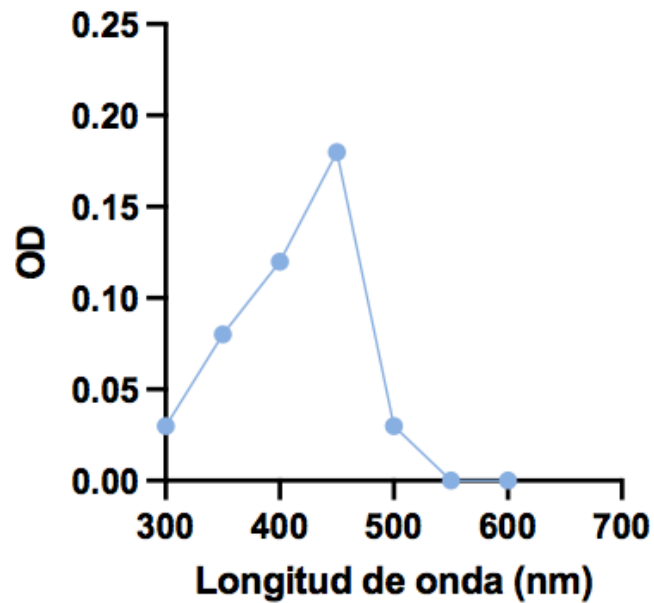
Fuente: Elaboración propia.

Figura 48: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 9 producido por el microorganismo N.



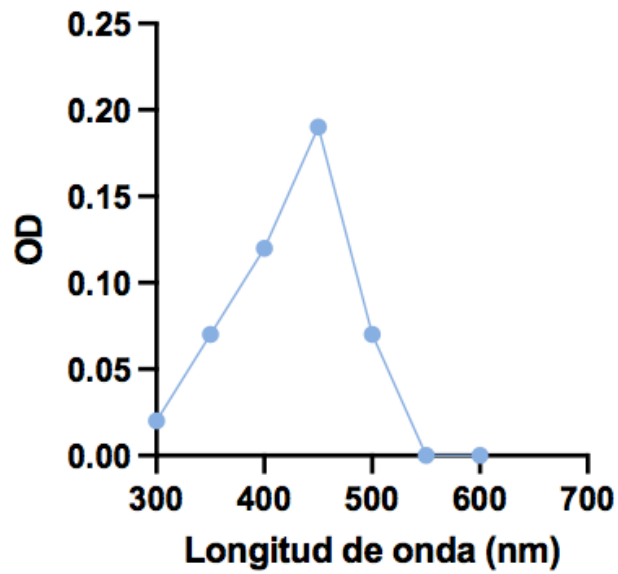
Fuente: Elaboración propia.

Figura 49: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 10 producido por el microorganismo R.



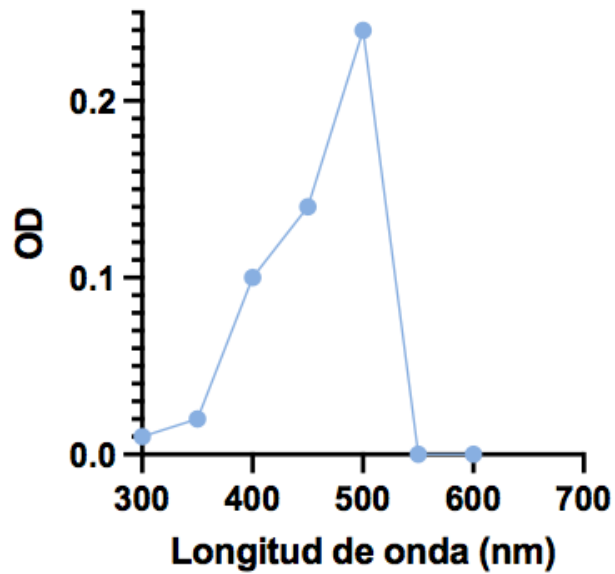
Fuente: Elaboración propia.

Figura 50: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 11 producido por el microorganismo R.



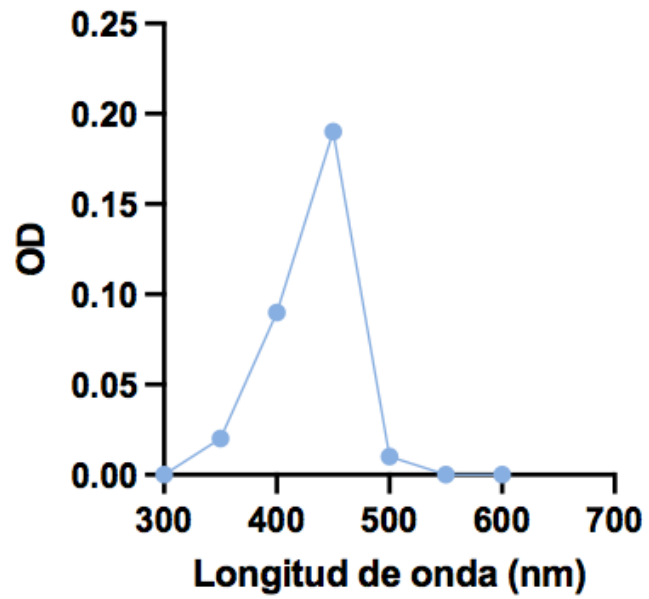
Fuente: Elaboración propia.

Figura 51: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 12 producido por el microorganismo R.



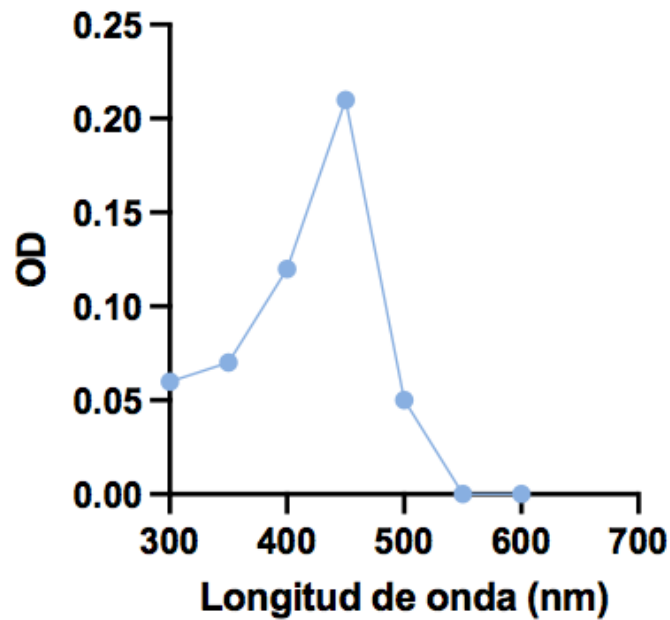
Fuente: Elaboración propia.

Figura 52: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 13 producido por el microorganismo R.



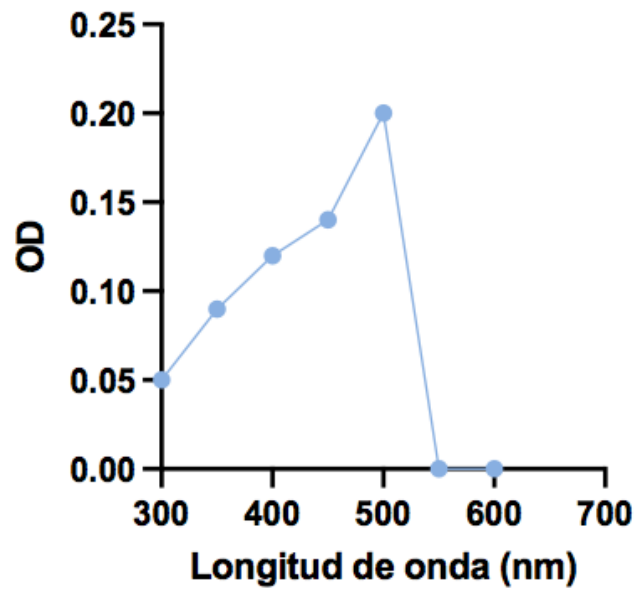
Fuente: Elaboración propia.

Figura 53: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 14 producido por el microorganismo R.



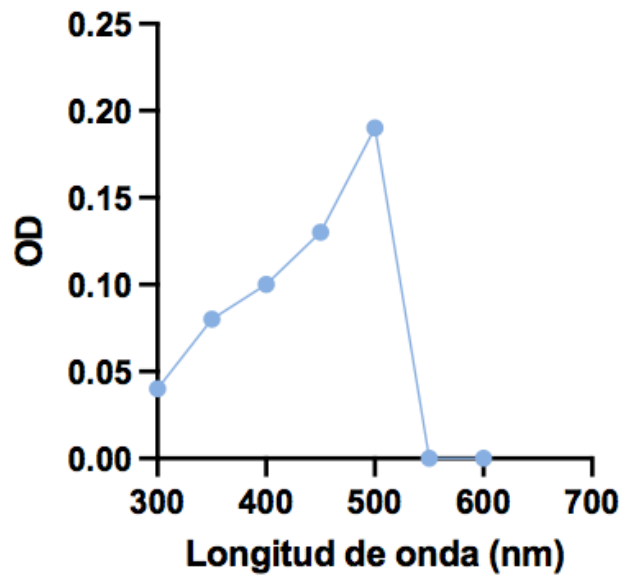
Fuente: Elaboración propia.

Figura 54: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 15 producido por el microorganismo R.



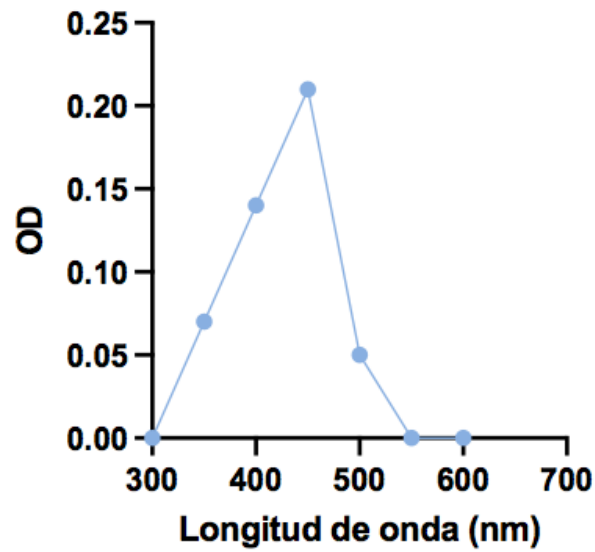
Fuente: Elaboración propia.

Figura 55: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 16 producido por el microorganismo R.



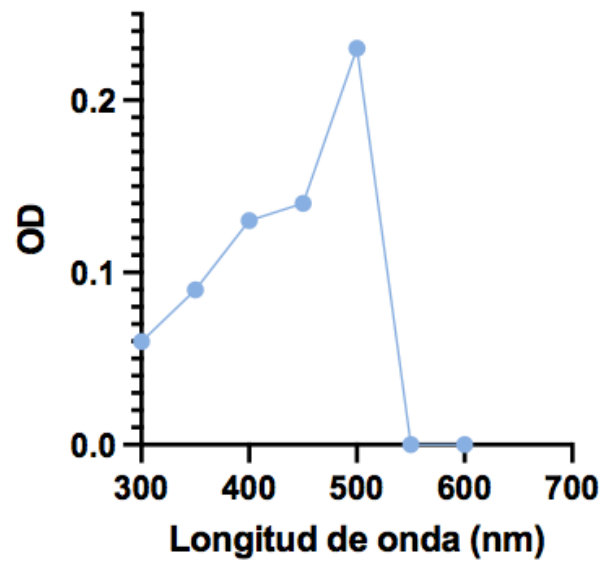
Fuente: Elaboración propia.

Figura 56: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 17 producido por el microorganismo R.



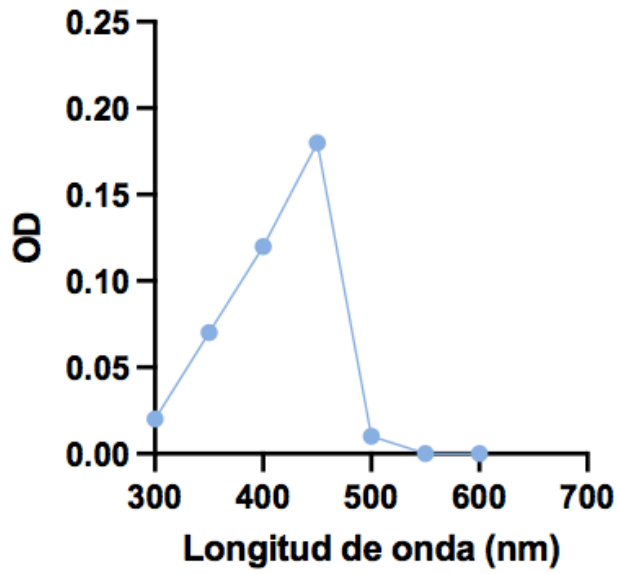
Fuente: Elaboración propia.

Figura 57: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 18 producido por el microorganismo R.



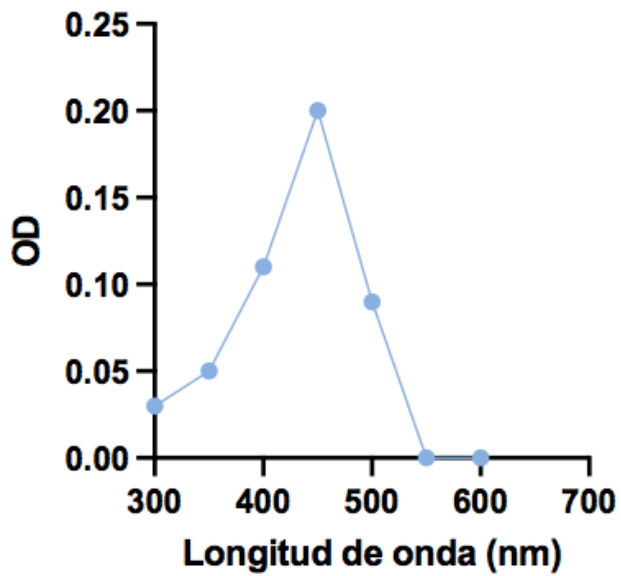
Fuente: Elaboración propia.

Figura 58: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 19 producido por el microorganismo A.



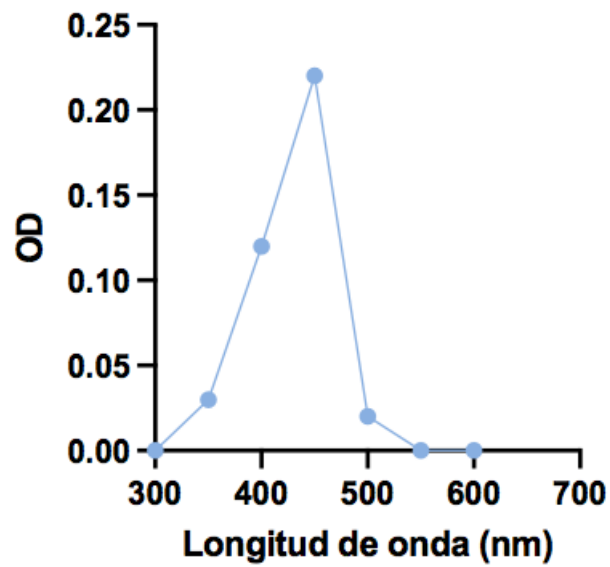
Fuente: Elaboración propia.

Figura 59: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 20 producido por el microorganismo A.



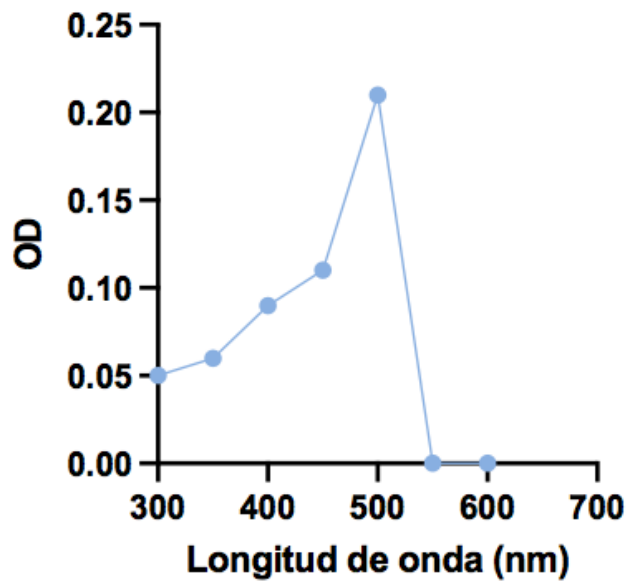
Fuente: Elaboración propia.

Figura 60: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 21 producido por el microorganismo A.



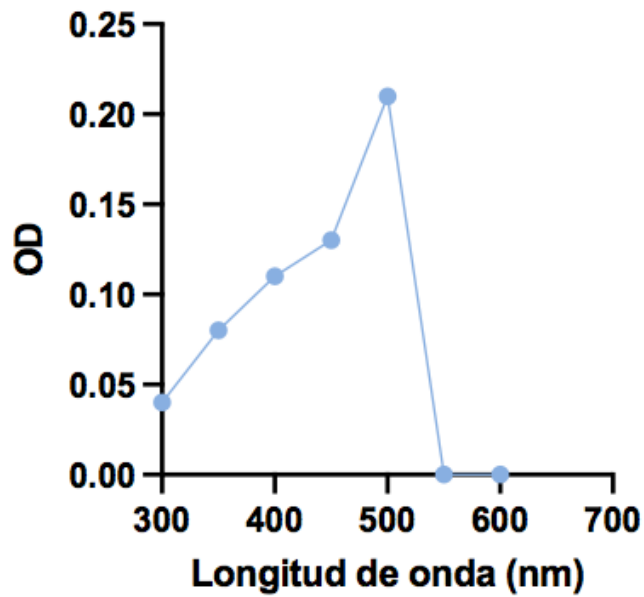
Fuente: Elaboración propia.

Figura 61: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 22 producido por el microorganismo A.



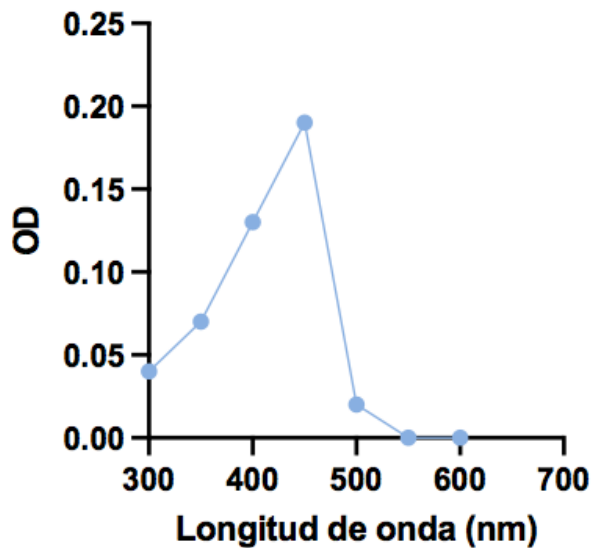
Fuente: Elaboración propia.

Figura 62: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 23 producido por el microorganismo A.



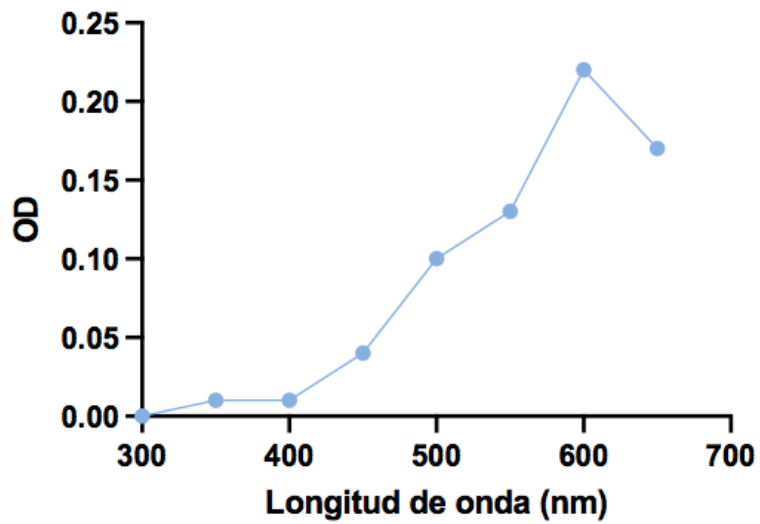
Fuente: Elaboración propia.

Figura 63: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 24 producido por el microorganismo A.



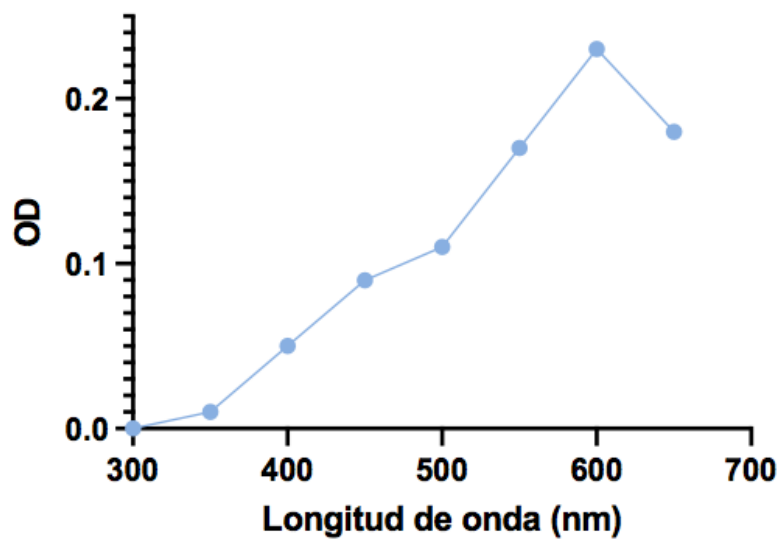
Fuente: Elaboración propia.

Figura 64: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 25 producido por el microorganismo A.



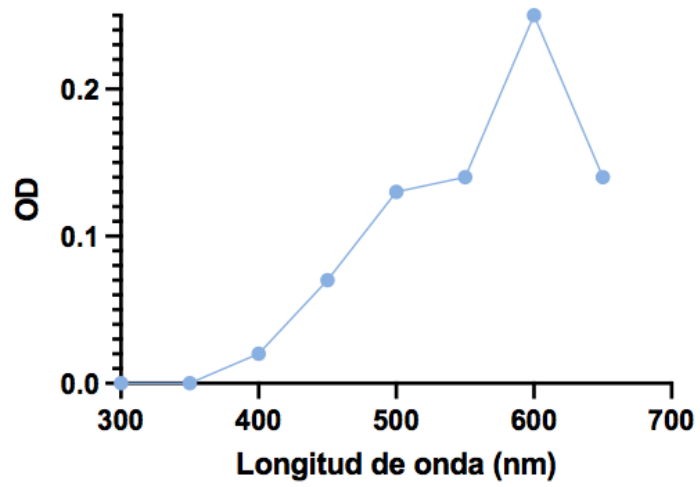
Fuente: Elaboración propia.

Figura 65: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 26 producido por el microorganismo A.



Fuente: Elaboración propia.

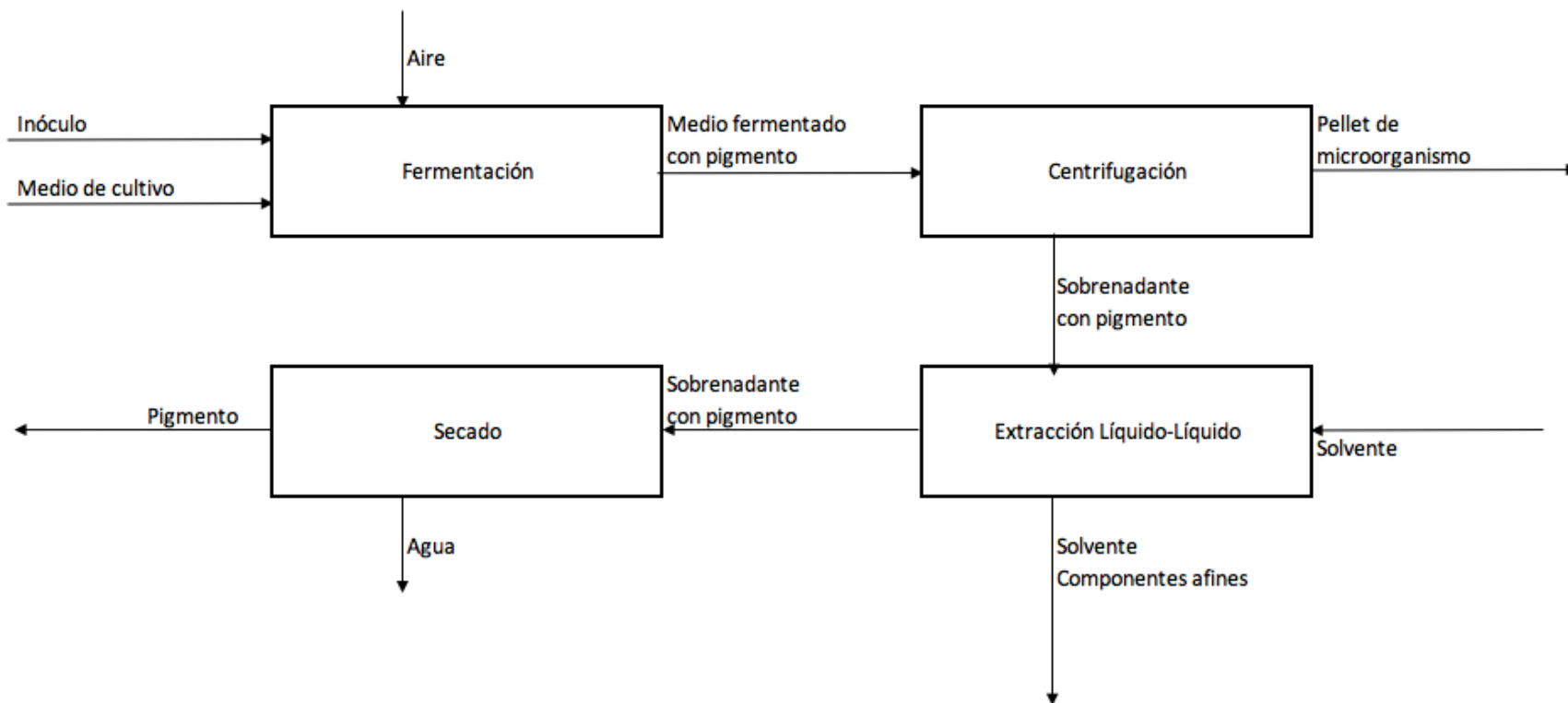
Figura 66: Densidad óptica a diferentes longitudes de onda (nm) del pigmento utilizado en la muestra 27 producido por el microorganismo A.



Fuente: Elaboración propia.

L. Esquematzación del proceso de producción y extracción de pigmentos

Figura 67: Esquematzación del proceso de producción y extracción de pigmentos a partir de un microorganismo.



Fuente: Elaboración propia.

*Las condiciones y metodología detallada del proceso se observa en la sección de Metodología.