

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



Producción de celulosa bacteriana a partir de diferentes
fuentes de carbono

Trabajo de graduación en modalidad de Tesis presentado por
Sofía Tzorín Herrera para optar al grado académico de
Licenciada en Química

Guatemala,
2021

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ciencias y Humanidades



Producción de celulosa bacteriana a partir de diferentes
fuentes de carbono

Trabajo de graduación en modalidad de Tesis presentado por
Sofía Tzorín Herrera para optar al grado académico de
Licenciada en Química


Guatemala,
2021

Vo.Bo.:



Tribunal examinador:

(f) 
Lic. Angel Ramirez Sandoval

(f) 
MSc. Elena Dardón Fresse

(f) 
Lic. María José Brán Bonilla

Fecha de aprobación del examen de graduación:

Guatemala, 15 de noviembre de 2021

Agradecimiento

A mis padres, Fabiana Herrera y Alfredo Tzorin por su amor y apoyo incondicional, que a pesar de todo, me alentaron a seguir adelante para cumplir mi meta.

A mi hermano, Sebastián Tzorin por sus consejos. Siempre estaré agradecida por sus enseñanzas.

A mi familia, por acompañarme y motivarme en este camino lleno de experiencias gratificantes.

A Elena Dardón, por sus conocimientos, experiencia y herramientas brindadas para que pudiera desarrollar mi tesis.

A mi amigo Shiro K., por su cariño, comprensión, paciencia y demostrarme que siempre podré contar con él.

A Valerie Soberanis, por su confianza y comprensión. Sin duda una gran amiga que admiro y estimo mucho,

A Cementos Progreso, S.A, en especial al CETEC por brindarme el apoyo, conocimientos y haciendo posible el análisis por difracción de rayos X.

A todas las personas que me han apoyado desde el ámbito profesional como personal, con su amistad, consejos y acompañamiento durante el desarrollo de esta Tesis

Contenido

Agradecimiento	V
Contenido	IV
Lista de cuadros	VI
Lista de figuras	VIII
Resumen.....	IX
I. Introducción	1
II. Justificación	3
III. Objetivo	5
A. Objetivo general	5
B. Objetivos específicos	5
IV. Hipótesis	6
A. Lista de variables	6
B. Definición de variables	7
V. Marco teórico.....	9
A. Celulosa.....	9
B. Celulosa bacteriana.....	9
C. Biosíntesis de celulosa bacteriana	12
D. Especies bacterianas	13
E. SCOBY	14

F. Técnicas de fermentación.....	15
G. Medios de cultivo.....	16
H. Fuentes de carbono	18
I. Residuo vegetal.....	19
J. Aplicaciones de la celulosa bacteriana.....	23
K. Espectrofotometría infrarroja	24
L. Índice de cristalización	25
M. Difracción de rayos X	26
VI. Metodología	29
A. Metodología experimental o investigación experimental	29
B. Procedimiento.....	29
C. Metodología para el análisis de muestras de celulosa	40
VII. Resultados	41
VIII. Análisis de resultados	52
A. Análisis de rendimiento de celulosa bacteriana	52
B. Análisis de espectros IR.....	54
C. Análisis de características físicas	56
D. Análisis de difracción de rayos X.....	57
IX. Conclusiones.....	59
X. Recomendaciones	61
XI. Bibliografía.....	62
XII. Anexos.....	70
A. Datos obtenidos	70

Lista de cuadros

Cuadro 1 Contenido de celulosa de diferentes fuentes vegetales	11
Cuadro 2 Estructura de celulosa según bacteria	14
Cuadro 3 Composición del medio Hestrin-Schramm	17
Cuadro 4 Sustratos utilizados como fuente de carbono para la producción de celulosa bacteriana	18
Cuadro 5 Valor nutricional de la piña cruda por cada 100g.....	20
Cuadro 6 Valor nutricional del limón crudo sin piel por cada 100g	21
Cuadro 7 Valor nutricional de la piel del limón por cada 100g	21
Cuadro 8 Valor nutricional de la papaya por cada 100g.....	22
Cuadro 9 Regiones del espectro infrarrojo.....	25
Cuadro 10 Fuentes de carbono para el medio HS.....	33
Cuadro 11 Peso promedio de celulosa bacteriana húmeda y seca según la fuente de carbono.....	41
Cuadro 12 Valores promedio para la producción y rendimiento de la celulosa bacteriana seca respecto a la fuente de carbono.....	43
Cuadro 13 Analisis de ANOVA de un factor.....	44
Cuadro 14 Características físicas de la celulosa bacteriana según fuente de carbono empleada	2
Cuadro 15 Comparación de picos del espectro infrarrojo experimental de celulosa bacteriana según fuente de carbono con el teórico	50
Cuadro 16 Peso y promedio de la celulosa bacteriana húmeda según la fuente de carbono.....	70
Cuadro 17 Peso y promedio de celulosa bacteriana seca respecto a la fuente de carbono.....	71

Cuadro 18 Producción y rendimiento de la celulosa bacteriana seca según la fuente de carbono.....	71
Cuadro 19 Valores promedio de porcentaje(%) de humedad y porcentaje de celulosa bacteriana en la CB húmeda según la fuente de carbono	72

Lista de figuras

Figura 1 (A) Imagen de la estructura de la celulosa bacteriana por SEM (B) Enlace inter e intra-hidrógeno de la celulosa bacteriana	10
Figura 2 Procedimiento general.....	30
Figura 3 Preparación de residuos vegetales.....	34
Figura 4 Preparación de solución de inoculación	35
Figura 5 Preparación de muestras de cultivo.....	36
Figura 6 Extracción de celulosa.....	38
Figura 7 Análisis por difracción de rayos X	39
Figura 8 Comparación del peso de la celulosa bacteriana húmeda y seca según la fuente de carbono.....	42
Figura 9 Comparación de la producción de celulosa bacteriana seca respecto a la fuente de carbono	43
Figura 10 Espectro infrarrojo de la celulosa bacteriana obtenida empleando cáscaras de piña	46
Figura 11 Espectro infrarrojo de la celulosa bacteriana obtenida empleando cáscaras de papaya	47
Figura 12 Espectro infrarrojo de la celulosa bacteriana obtenida empleando limón exprimido	47
Figura 13 Espectro infrarrojo de la celulosa bacteriana obtenida empleando maltosa	48
Figura 14 Espectro infrarrojo de la celulosa bacteriana obtenida empleando manosa	48
Figura 15 Espectro infrarrojo del papel Whatman sin ceniza	49
Figura 16 Espectro teórico infrarrojo y Raman para la celulosa.....	49
Figura 17 Difractograma de la celulosa bacteriana a partir de papaya.....	51

Resumen

El presente estudio estableció como objetivo comparar el rendimiento de la producción y características de la celulosa bacteriana (CB) a partir de diferentes fuentes de carbono. Se utilizó el medio de cultivo Hestrin & Schramm(HS), que consta de peptona, extracto de levadura, fosfato disódico, ácido cítrico y glucosa. En el medio HS se realizó la variación de las fuentes de carbono a evaluar: manosa, maltosa, cáscara de piña, limón exprimido y cáscara de papaya. Se empleó un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY), con el cual se realizó una solución de inoculación que se integró a las muestras con el medio HS. Se esperó por 14 días para obtener las membranas de celulosa bacteriana. Además, se hizo la caracterización por espectrofotometría infrarroja (IR) de dichas películas para comparar su composición química y análisis por difracción de rayos X para la CB con mayor rendimiento. La celulosa bacteriana obtenida a partir de cáscara de papaya demostró tener el mejor rendimiento con un $29.2460\% \pm 0.0452\%$. Así como, una cantidad mayor de bandas significativas de la celulosa y un difractograma con patrones similares con una coincidencia del 100% para celulosa tipo I_{β} . El menor rendimiento lo presentó el limón exprimido con $1.2106 \pm 0.0024\%$, dado que este residuo posee una cantidad inferior de azúcares y minerales respectivamente.

I. Introducción

La celulosa bacteriana (CB) es un polímero extracelular producido por bacterias. Posee una estructura con un mayor grado de cristalinidad, conformación reticular y alta pureza en comparación con la celulosa de origen vegetal (Chávez *et al.*, 2004). Debido a que presenta diferentes características, se muestra un gran interés en su estudio en el área académica e industrial. Sin embargo, los sistemas de fermentación existentes son de bajos rendimientos en la producción de CB generando un alto costo monetario para su fabricación, provocando una poca expansión de su uso (Azeredo *et al.*, 2019)

Este tipo de celulosa tiene múltiples aplicaciones entre ellas en el área alimentaria como un ingrediente versátil en jugos, helados y yogurt debido a su textura única e insípida (Sukura y Meliawati, 2014). Así como, un sustituto a las grasas en ciertos productos alimenticios como las albóndigas (Lin & Lin, 2006). Su gran capacidad de biocompatibilidad en células humanas permite que sea empleado como apósitos para regenerar tejidos en casos de quemaduras segundo o tercer grado y como andamio en el tratamiento de cartílagos y huesos. Siendo así un material prometedor en aplicaciones biomédicas (Gorgieva, 2020).

Actualmente, las investigaciones se están enfocando en estudiar los efectos de las condiciones y nutrientes del medio, debido a que estos influyen en la producción de la celulosa bacteriana. Principalmente, focalizándose en la fuente de carbono, dado que las bacterias lo emplean como fuente de energía para realizar síntesis de elementos celulares (Hernández, 2018). El medio de cultivo más extendido por brindar rendimientos mayores para la fabricación de este polímero es el de Hestrin-Schramm que consta de peptona, extracto de levadura, fosfato disódico, ácido cítrico y glucosa (Carreño, Caicedo & Martínez, 2012).

Asimismo, se ha investigado el uso de residuos agroindustriales (melaza, pulpa de uva, diferentes jugos de frutas, etc.) como medios de cultivo con el fin de aumentar la producción de celulosa con respecto a la utilización de glucosa como única fuente de carbono. Se atribuye a los nutrientes adicionales que se encuentran en los residuos el aumento en la fabricación de la celulosa (Castro, 2015).

Por lo que está investigación pretende lograr una mayor producción de celulosa bacteriana al comparar cinco fuentes de carbono en el medio Hestrin & Schramn. Dichas fuentes son, dos provenientes de reactivos grado analítico (maltosa y manosa) y residuos vegetales (cáscaras de piña, limón exprimido y cáscara de papaya), estos últimos son subproductos que a nivel industrial se desperdician y pueden ser aprovechados. El medio de inóculo es el SCOBY, este cultivo simbiótico de bacterias y levaduras poseen los microorganismos productores de celulosa. Asimismo, se realizó la caracterización y comparación de su composición química por espectrofotometría infrarroja para conocer la pureza de la CB producida y análisis por difracción de rayos X para la fuente que presentó mayor rendimiento.

II. Justificación

La celulosa bacteriana es un polímero que cuenta con numerosas aplicaciones debido a su característico grado de cristalinidad, pureza y biocompatibilidad (Chávez *et al.*, 2004). Actualmente, la producción de este tipo de celulosa es ineficiente y de alto costo monetario (Azeredo *et al.*, 2019). Debido a esto las investigaciones se están enfocando a encontrar una especie que sea capaz de fabricar una mayor cantidad de celulosa. Así como, conocer los efectos de las condiciones y nutrientes para una producción más eficiente (Hernández, 2018).

Por tal razón, con este estudio se busca producir celulosa bacteriana a partir de diferentes fuentes de carbono, provenientes de reactivos grado analítico (maltosa y manosa) y residuos vegetales (cáscaras de piña, limón exprimido y cáscara de papaya). De esta forma comprender los efectos de las fuentes de carbono en los rendimientos de la producción de la CB. Así como, determinar su pureza por medio de la comparación de su composición química empleando caracterización por espectrofotometría infrarroja y difracción de rayos X. Además, conocer la factibilidad y productividad al emplear residuos vegetales, que son de fácil acceso. Así como, aportar en la disminución de la contaminación por dichos desechos.

Haciendo posible que el sector industrial pueda llegar a producir este tipo de celulosa a un menor costo y con mayores rendimientos, para que en un futuro pueda ser empleado como un biomaterial para vendajes de heridas y regeneración de tejidos, cartílagos y huesos, contribuyendo en el área de medicina.

Asimismo, se busca fomentar el estudio entorno a la celulosa bacteriana en Guatemala. Inspirando a otros trabajos que investiguen dicho compuesto a partir de

diferentes tipos de microorganismos y condiciones para la creación de mejores soluciones en el ámbito medioambiental y en aplicaciones biomédicas.

III. Objetivo

A. Objetivo general

Comparar el rendimiento y características de la celulosa bacteriana producida a partir de diferentes fuentes de carbono.

B. Objetivos específicos

1. Comparar el rendimiento de la celulosa bacteriana producida por un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras al utilizar las fuentes de carbono de maltosa, manosa, cáscaras de piña, limón exprimido, cáscara de papaya.
2. Determinar la pureza de la celulosa bacteriana producida a partir de diferentes fuentes de carbono a través de espectrofotometría infrarroja.

IV. Hipótesis

El rendimiento porcentual de celulosa bacteriana obtenida difiere según la fuente de carbono utilizada.

La pureza de la celulosa bacteriana producida es mayor en comparación con la celulosa vegetal.

A. Lista de variables

1. Variables dependientes

Rendimiento porcentual de celulosa bacteriana

Pureza de la celulosa bacteriana

2. Variables independientes

Fuentes de carbono

B. Definición de variables

1. Variables dependientes

a. Rendimiento porcentual de celulosa bacteriana

Definición conceptual: peso de la CB que se obtiene entre la cantidad de la fuente de carbono que se deposita en el cultivo (Hernández, 2018).

Definición operacional: Peso en seco de celulosa bacteriana obtenida de cada muestra con distintas fuentes de carbono.

b. Pureza de la celulosa bacteriana

Definición conceptual: Espectros infrarrojos que muestran las bandas características de la celulosa bacteriana (Hernández, 2018).

Definición operacional: Pureza de la CB a través de la comparación de espectro IR teórico y el obtenido por las muestras con distintas fuentes de carbono.

2. Variables independientes

a. Fuente de carbono

Definición conceptual: Fuente de energía compuestos de carbono que les permite realizar síntesis de elementos celulares. Por lo tanto, la fuente de carbono es un elemento principal en un medio. Estas pueden ser sacáridos o carbohidratos, estos se dividen en monosacáridos, disacáridos, polisacáridos y oligosacáridos. Siendo los dos primeros mencionados los de menor peso molecular (Hernández, 2018).

Definición operacional: Cantidad utilizada de las fuentes de carbono: maltosa, manosa, cáscaras de piña, limón exprimido y cáscara de papaya en el cultivo.

V. Marco teórico

A. Celulosa

La celulosa es la molécula biológica de mayor abundancia en la tierra. Este biopolímero es uno de los componentes en la estructura de la pared celular de las plantas. Está formada por alrededor de 2000 a 14000 unidades de β -(1-4) glucosa en cadenas no ramificadas, que se encuentran unidas entre sí por los enlaces de puente de hidrógeno. Además, muestra diferentes formas cristalinas que dan origen a polimorfismo de la celulosa (Chávez *et al.*, 2004). Actualmente, la celulosa puede ser obtenida a través de diferentes fuentes:

- 1) De origen vegetal.
- 2) Por síntesis química *in vitro* por medio de derivados de glucosa bencilados.
- 3) Por síntesis enzimática *in vitro*.
- 4) De organismo de distintos reinos.

La celulosa es una de las materias primas más empleadas en diversas áreas tales como fabricación de papel, textil, en material de construcción, alimenticia, entre otras. Así como su aplicación característica en la biotecnología y medicina (Niyazbekova *et al.*, 2018).

B. Celulosa bacteriana

La celulosa bacteriana (CB) es un polímero extracelular producido por bacterias. Posee una estructura con un mayor grado de cristalinidad, conformación

reticular y alta pureza. Destacando como fuente alternativa a la celulosa de origen vegetal (Chávez *et al.*, 2004).

Está formada por residuos de glucosa que se encuentran unidos por enlaces covalentes del carbono 1 y el 4(β -1-4) que da origen a cadenas de glucanos lineales. Estas se asocian por fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno (Figura 1). Cuando se da dicha asociación de al menos 10 cadenas se forma la denominada “microfibrilla” de la celulosa. Esos monofilamentos pueden llegar a tener un ancho de 20 a 60 nm una vez que se han cristalizado como cintas. Estas se solidifican en la superficie del medio de cultivo para dar origen a la red tridimensional característica de la CB (Gorgieva, 2020).

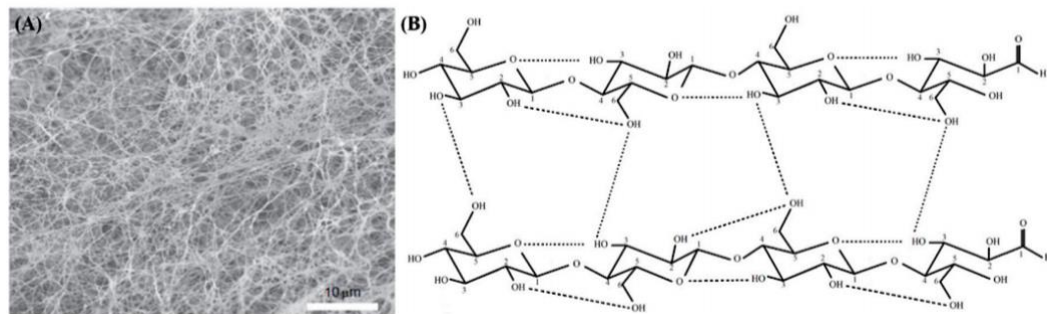


Figura 1 (A) Imagen de la estructura de la celulosa bacteriana por SEM (B) Enlace inter e intra-hidrógeno de la celulosa bacteriana.

(Choi & Shin, 2020)

Las microfibrillas de la celulosa bacteriana tienen las características de tener un grosor variable y polaridad unidireccional. Según el mecanismo de cristalización de las microfibrillas puede darse dos aloformas de celulosa: con orientación de las microfibrillas en forma paralela se produce celulosa I, esta es más predominante en la naturaleza. En caso, sea antiparalelo el arreglo se sintetiza celulosa II. Sin embargo, se puede obtener celulosa III y IV, que poseen estructuras cristalinas diferentes a través de un proceso químico de la celulosa I o II (Chávez *et al.*, 2004).

Otra característica es que a diferencia de la celulosa vegetal que contiene hemicelulosa y lignina, la CB tiende a carecer de estos compuesto haciendo que tenga una alta pureza (Figura 2). También, cuenta con un grado de cristalinidad mayor al 60% pudiendo ser celulosa I α y I β . Esto dependerá de las condiciones de cultivo (fuente de carbono, temperatura, suplementos) y del microorganismo utilizado para su fabricación. Las ventajas de la CB son las siguientes: biodegradable, no tóxica, no provoca reacción alérgica al contacto y es biocompatible, permitiendo un uso futuro en sectores como la medicina (Pineda, Caicedo & Martínez, 2012).

Cuadro 1 Contenido de celulosa de diferentes fuentes vegetales

Fuente	Composición (%)			
	Celulosa	Hemicelulosa	Lignina	Extracto
Bacteriana	98	0	0	0
Algodón	95	2	1	0.4
Henequén	78	4-8	13	4
Ixtle	73	4-8	17	2
Madera	43-47	23-35	16-24	4-8
Bagazo	40	30	20	10

(Chávez *et al.*, 2004)

C. Biosíntesis de celulosa bacteriana

Existen diferentes tipos de bacterias que producen celulosa a través de distintas fuentes de carbono, tales como sacarosa comercial, manitol, glucosa, glicerol, residuos de la industria del biodiésel, entre otros (Gorgieva, 2020). El proceso en la bacteria se da principalmente por dos vías anfibólicas: el ciclo de las Pentosas fosfato y el ciclo de Krebs (Moniri *et al*, 2017).

La etapa inicial se da cuando al microorganismo le ingresa el sustrato y por la enzima glucoquinasa hay una conversión a glucosa-6-fosfato. Esta pasa a ser glucosa-1-fosfato por la enzima fosfoglucomutasa. En presencia de la enzima UDPG pirofosforilasa, el compuesto de glucosa-1-fosfato se transforma a UDP-glucosa. Por último, ocurre la acción de la enzima encargada de la polimerización de la glucosa, la celulosa-sintasa, originando la celulosa. La biosíntesis de CB al emplear disacáridos comienza en la hidrólisis de dicho disacárido transformado a un monosacárido (Moniri *et al.*, 2017).

La segunda etapa ocurre para producir la polimerización de la glucosa y posteriormente ser excretada al medio de cultivo. Los poros de 3.5 nm en el microorganismo se encuentran alineados diametralmente en la membrana celular. Entonces, la celulosa como una subfibrilla elemental de 1.5 nm es secretada al exterior. Estas subfibrillas originan una microfibrilla, dando un empaquetamiento característico. Además, a su vez se forma fibra y cintas de celulosa (Pineda, Caicedo & Martínez, 2012).

D. Especies bacterianas

Entre las bacterias productoras de celulosa bacteriana se encuentran las especies *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Azotobacter* y *Sarcina*, en este caso el polímero hace más fácil la adhesión celular en interacciones simbióticas. Sin embargo, los principales productores son los pertenecientes al género *Komagataeibacter*, conocidos antiguamente como *Gluconacetobacter*. Esto es debido a que son capaces de metabolizar distintas fuentes de carbono y nitrógeno (Azeredo *et al.*, 2019). Su mayor exponente es *Gluconacetobacter xylinum* que ha demostrado dar mejores rendimientos en la producción de CB. Esta bacteria ha sido estudiada por más de 100 años y ha servido como modelo de elección en la exploración de los procesos de biogénesis (Kongruang, 2008).

La celulosa bacteriana dentro del hábitad natural permite proteger de manera química, mecánica y biológica, ya que mantiene en la interfase aire-líquido a la población de bacterias. Asimismo, la matriz polimérica que se forma ayuda a que el suministro de nutrientes sea más fácil para el microorganismo, ya que las propiedades de adsorción de la estructura de celulosa, hacen que se concentren de mejor manera dichos nutrientes. Otros autores mencionan que la celulosa sintetizada podría ser fundamental para el almacenamiento de alimentos en momentos de escasez que el microorganismo emplearía (Pineda, Caicedo & Martínez, 2012).

Cuadro 2 Estructura de celulosa según bacteria

Género	Estructura de celulosa
Acetobacter	Película extracelular compuesta de cintas
Achromobacter	Fibrillas
Aerobacter	Fibrillas
Agrobacterium	Fibrillas cortas
Alcaligenes	Fibrillas
Pseudomonas	Fibrillas no distinguibles
Rhizobium	Fibrillas cortas
Sarcina	Celulosa amorfa
Zoogloea	No bien definida

(Hernández, 2018)

E. SCOPY

La palabra SCOPY viene de las siglas en inglés Symbiotic Consortium of Bacteria and Yeast (cultivo simbiótico de bacterias y levaduras). Es una matriz celulósica macroscópica plana, que se establece en la superficie del sustrato. Puede contener una cantidad muy variada de bacterias y levaduras que dependen unas de otras. En otros países se le denomina como hongo de té negro o *Manchurian fungus*. Su mayor uso es para la creación de una bebida no alcohólica llamada kombucha (Granda & Esturpián, 2019).

Tienen un mecanismo sofisticado, donde los subproductos de la fermentación de cada bacteria y levadura permite alimentarse entre sí. Al darse este proceso se fabrica una capa de celulosa secundaria, por los microorganismos que tienen esta capacidad. La simbiosis permite además crear una barrera más fuerte contra organismos patógenos que puedan invadir el caldo (Granda & Esturpián, 2019).

Entre los microorganismos que se pueden encontrar en el SCOBY, están las Gluconacetobacter, tales como *G. saccharivorans* y *G. rhaeticus*. Ambas pertenecientes a la clase de bacterias del ácido acético, es decir, que son capaces de sintetizar ácido acético a partir de azúcares o alcohol etílico. Así como, fabricar productos esenciales como celulosa, ácido ascórbico, vinagre, entre otros (Fuentes *et al.*, 2003).

Además, existen levaduras que habitan en el SCOBY, entre ellas se encuentran las del género *Sacharomyces*, *Brettanomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Candida*, entre otros (Mukadam *et al.*, 2016).

F. Técnicas de fermentación

Existen dos técnicas principales para la producción de celulosa bacteriana que pueden ser a través de un cultivo estático, que genera una película blanca densa y la otra posibilidad es con un cultivo agitado, que crea microfibras suspendidas. Según, sea el caso y su aplicación final se obtendrá una morfología diferente en la celulosa (Moniri, 2017).

1. Cultivo agitado

Al darse el proceso de fermentación en el cultivo agitado se forman aglomeraciones amorfas de las fibras dado por un menor agrupamiento. Esto se puede hacer empleando reactores de tanque agitado o *airlift*, ya sea para cultivos por lotes o en continuo. Sin embargo, debido a la baja productividad reportada y menor que en cultivos estáticos, el escalamiento a nivel industrial no ha sido fácil. Esta productividad menor ocurre por células no productoras de polímero que al estar

en agitación se favorece su crecimiento y llegan a consumir el sustrato (Carreño, Caicedo & Martínez, 2012).

2. Cultivo estático

Para el cultivo estático se produce una celulosa en forma de gel, siendo un 1% de celulosa del peso total. Estudios han demostrado que al principio, el microorganismo aumenta su población a través del consumo de oxígeno disuelto que está en el medio. Ahora bien, las bacterias que se ubican cerca de la interfase aire/medio del cultivo serán las únicas con disponibilidad de oxígeno permitiendo así mantener su actividad y fabricar celulosa, generando capas superpuestas de la misma. Conforme el tiempo de la fermentación avanza, se forman más capas en la superficie aumentando su espesor (Pineda, Caicedo & Martínez, 2012).

El cultivo por lo general requiere de 5 a 20 días para que se forme una hoja, en caso de que se coloque en una bandeja. Las partículas de CB flotan hacia la parte superior debido a las burbujas de CO₂ generadas por las bacterias. Se puede usar recipientes de distintas formas, obteniendo la figura del material en la que se cultivó. La principal desventaja del cultivo estático es que requiere tiempo y se consiguen baja productividad, haciendo poco viable su producción a una escala mayor (Azeredo *et al.*, 2019).

G. Medios de cultivo

Existen tres tipos de medios para CB, entre ellos están Yamanaka (Y), Hestrin-Schramm (HS) y Zhou (Z). Sin embargo, el medio de cultivo más extendido para la fabricación de celulosa bacteriana es el obtenido por Hestrin y Schramm en

1954, ya que permite obtener rendimientos mayores de producción en comparación a otros. Se ha estudiado que el peso en seco de la CB en cultivo HS fue mayor a los de Yamanaka y Zhou. Además, permite sustituir ciertas materias primas, para el proceso de fermentación por algunos materiales más baratos (Moniri *et al.*, 2017).

Cuadro 3 Composición del medio Hestrin-Schramm

Compuesto	g/L
Fuente de carbono	20
Extracto de levadura	5
Peptona	5
Ácido cítrico	1.15
Na ₂ HPO ₄	2.7

(Hestrin & Schramm, 1954)

Este medio emplea 20 g/L de glucosa , 5 g/L de extracto de levadura, 5 g/L peptona, 2.7 g/L fosfato disódico y 1.15 g/L de ácido cítrico (cuadro 3). Manteniendo un pH de 5. Se puede sustituir la glucosa por otra fuente de carbono, tal como algún residuo agroindustrial (Figura 4) (Poyrazoglu & Biyik, 2011). Según Son *et. al* (2002), lograron una productividad de CB de 7.2 g/l, al cambiar un compuesto en el medio HS por licor de maíz fermentado. Esto es tres veces mayor al producido por el medio HS.

Cuadro 4 Sustratos utilizados como fuente de carbono para la producción de celulosa bacteriana

Sustratos	Referencia
<i>Helianthus tuberosus</i> (alcachofa de Jerusalén)	(Hong, 2011)
Extracto de harina de soya	(Qiu & Netravali, 2013)
Paja de trigo	(Hong, 2011)
Suero de queso	(Carreira et al., 2011)
Residuos de la industria textil a base de algodón	(Hong et al., 2011)
Melazas como de remolacha o caña de azúcar	(Keshk & Sameshima, 2006)
Cascarilla de la cereza del café	(Rani & Appaiah, 2011b)
Polvo hidrolizado de Konjac	(Hong & Qui, 2008a)

(Navarro, 2018)

H. Fuentes de carbono

Los microorganismos radican en materia orgánica contiene carbono, nitrógeno, hidrógeno, oxígeno, fósforo y azufre. Así como requieren iones inorgánicos como hierro, potasio, sodio, calcio, magnesio y cloruro. Especialmente, durante su crecimiento necesitan de todos los elementos mencionados en su materia orgánica. Así como existir una fuente de energía que permita instaurar la fuerza motriz protónica y darse la síntesis macromolecular. Según el microorganismo empleado así serán sus necesidades de fuentes de energía metabólica y nutricionales (Llop, Valdés & Zuazo, 2001).

La mayor parte de bacterias emplean como fuente de energía, compuestos de carbono que les permite realizar síntesis de elementos celulares. Por lo tanto, la fuente de carbono es un elemento principal en un medio. Estas pueden ser sacáridos o carbohidratos, estos se dividen en monosacáridos, disacáridos, polisacáridos y oligosacáridos. Siendo los dos primeros mencionados los de menor peso molecular (Hernández, 2018).

Diversos estudios sobre producción de celulosa bacteriana con condiciones definidas mostraron que la utilización de glicerol como fuente de carbono, en comparación con la fructuosa y glucosa, mejoraba y aumentaba la cantidad de CB producida en un 40%. Así como el empleo de glucosa presenta menor producción contrariamente al uso de arabitol y mezclas de fructuosa con sacarosa y lactosa (Carreño, Caicedo & Martínez, 2012).

I. Residuo vegetal

Actualmente, se ha investigado el uso de residuos agroindustriales como medios de cultivo como fin de aumentar la producción de celulosa con respecto a la utilización de glucosa como única fuente de carbono. Entre los diferentes sustratos resaltan melaza, pulpa de uva y diferentes jugos de frutas (piña, naranja, banano, pera, entre otros). Se atribuye a los nutrientes adicionales que se encuentran en los residuos el aumento en la fabricación de la celulosa (Castro, 2015).

1. Piña

La piña es un fruto proveniente de la planta herbácea perenne de las liliopsidas. Se estima que a nivel mundial para los años 2006-2010, la producción de piña fresca fue de 17.5 a 18.0 millones de toneladas (López, WingChing & Rojas, 2014). Se emplea mayormente la pulpa para realizar jugos, rodajas en conserva, vinagre, mermeladas, entre otros (Soriano & Barreto, 2018).

Sin embargo, el mismo crecimiento en área cultivada y las ventas de este producto, surgio un aumento en los subproductos obtenidos de este cultivo, tales como los rastrojos, los tallos, las coronas, el corazón y las cáscaras (López,

WingChing & Rojas, 2014). Estos últimos residuos mencionados han tenido un gran potencial para su utilización en la producción de etanol, azúcares, celulosa vegetal, etc (Soriano & Barreto, 2018).

Cuadro 5 Valor nutricional de la piña cruda por cada 100g

Parámetro	Valor	Unidades
Agua	86	g
Proteína	0.54	g
Lípidos(grasas)	0.12	g
Fibra	1.4	g
Azúcares totales	9.85	g
Calcio	13	mg
Hierro	0.29	mg
Fósforo	8	mg
Zinc	0.12	mg
Magnesio	12	mg
Potasio	109	mg
Sodio	1	mg

Adaptado de: (Soriano & Barreto, 2018)

2. Limón

El limonero es un árbol vigoroso que pertenece a la familia de las Rutáceas. Cuyo fruto es el limón, este posee una pulpa de color entre verde y amarillo. El principal uso del fruto es su zumo para la preparación de bebidas, aderezos, saborizante, etc (Maga, 2014).

Los sub productos son utilizados por la industria de alimentos y farmacéutica, para la obtención de aceites esenciales, aromas, resinas, entre otros. Sin embargo, hay una creciente contaminación por sus residuos sólidos como por los efluentes cítricos que se generan en las etapas de la producción del zumo (Guzmán, 2015).

Cuadro 6 Valor nutricional del limón crudo sin piel por cada 100g

Parámetro	Valor	Unidades
Agua	88.98	g
Proteína	1.1	g
Lípidos(grasas)	0.3	g
Fibra	2.8	g
Azúcares totales	2.5	g
Calcio	26	mg
Hierro	0.6	mg
Fósforo	138	mg
Zinc	0.06	mg
Magnesio	8	mg
Potasio	138	mg
Sodio	2	mg

(USDA, S.F)

Cuadro 7 Valor nutricional de la piel del limón por cada 100g

Parámetro	Valor	Unidades
Agua	81.6	g
Proteína	1.5	g
Lípidos(grasas)	0.3	g
Fibra	10.6	g
Azúcares totales	4.17	g
Calcio	134	mg
Hierro	0.8	mg
Fósforo	12	mg
Zinc	0.25	mg
Magnesio	15	mg
Potasio	160	mg
Sodio	6	mg

(USDA, s.f)

3. Papaya

La papaya es un fruto tropical con un color que varía de amarillo rojizo a pálido. Proveniente de la planta *Carica papaya*, siendo esta la más importante de las 21 especies que conforman al género *Carica*. El fruto consta de tres partes: el exocarpio o cáscara, la pulpa y el endocarpio que posee semillas y mucílago. Los principales países productor son India, Brasil, México y Nigeria. La producción mundial en el año 2016 fue de 12,980 toneladas. Para el caso de las exportaciones de este fruto en 2016, Guatemala se encontraba en el segundo lugar con 46.9 miles de toneladas (Mejía & Vides, 2018).

El consumo de la papaya es extendido en todo el mundo debido a sus múltiples aplicaciones. Por ejemplo, como alimento en diferentes presentaciones (deshidratada, licuada, en almíbar, etc.). Así como, su uso en la industria cosmética, textil, farmacéutica, entre otras (Vázquez *et al.*, 2010).

Cuadro 8 Valor nutricional de la papaya por cada 100g

Parámetro	Valor	Unidades
Agua	88.06	g
Proteína	0.47	g
Lípidos(grasas)	0.26	g
Fibra	1.7	g
Azúcares totales	7.82	g
Calcio	20	mg
Hierro	0.25	mg
Fósforo	10	mg
Zinc	0.08	mg
Magnesio	21	mg
Potasio	182	mg
Sodio	8	mg

(USDA, s.f)

J. Aplicaciones de la celulosa bacteriana

En la industria alimentaria, la celulosa bacteriana sirve para hacer un postre llamado nata que se le agrega a ciertas bebidas, gelatinas y yogures. Asimismo, su textura y sabor puede ser cambiado según el técnica usada. Siendo así, un material con potencial para crear bocadillos con menos calorías (Azeredo *et al.*, 2019). La CB se ha empleado como sustituto de grasa en albóndigas dando buenos resultados en las propiedades sensoriales y reduciendo a la mitad el contenido de grasa en comparación con una albóndiga regular (Lin & Lin, 2006).

Este tipo de celulosa es hidrófila permitiendo ser capaz de estabilizar emulsiones de aceite en agua. Así como, previene la precipitación del cacao en un líquido con chocolate y logra mantener la viscosidad del mismo después de un tratamiento térmico (Okiyama, Motoki & Yamanaka, 1993). Pudiendo ser un espesante alternativo más económico en comparación con la goma algarrobo y xantana (Paximada, Koutinas & Mandala, 2016).

Se ha convertido en foco de estudio el uso de la CB como alternativa a los materiales plásticos. Se fabricó un envasado de salchichas con una mezcla de celulosa bacteriana y polilisina que posibilito extender la vida útil del producto cárnico a través de la disminución de bacterias durante el tiempo de almacenamiento (Zhu *et al.*, 2010). La combinación de diferentes materiales biodegradables con la CB, como el polivinilpirrolidona y carboximetilcelulosa permite tener un bio-film con mayor alargamiento a la rotura y capacidad de resistir un tirón directo. (Bandyopadhyay *et al.*, 2018).

En el campo médico, dado que la celulosa bacteriana tiene una biocompatibilidad excepcional sirve como un material para regeneración de tejidos,

es decir, apósito para injertos vasculares, heridas, entre otros. Según Fu, Zhang & Yang (2012), los efectos de materiales hechos con CB en animales para el tratamiento de heridas presentó una reducción en la respuesta inflamatoria y una cicatrización acelerada. También, como andamio para la construcción de cartílago y huesos empleados en cirugías reconstructivas. Se han creado prototipos de vasos sanguíneos con CB mostrando una resistencia mecánica eficaz (Niyazbekova *et al.*, 2018).

En el papel, la celulosa bacteriana permite que sea más hidrófoba, disminuyendo el daño y desgastes de la superficie. Además, tener un impacto positivo y sostenible en la fabricación de dicho papel (Niyazbekova *et al.*, 2018).

K. Espectrofotometría infrarroja

La espectroscopía infrarroja es un método que estudia la absorción o emisión de energía radiante que proviene de las interacciones entre la radiación electromagnética y la muestra de estudio. Se basa principalmente en la capacidad que tienen las moléculas de vibrar y rotar a diferentes frecuencias (Piqué & Vásquez, 2012).

Por lo tanto, una molécula puede llegar a absorber energía de fotones en el rango energético de infrarrojo, cuando exista una diferencia en su momento dipolar (Piqué & Vásquez, 2012). La región infrarroja (IR) del espectro corresponde a las longitudes de onda 0.78 a 1000 μm o número de onda entre 12800 y 10 cm^{-1} . Existen tres regiones las cuales son: cercana, media y lejana (Skoog, Holler & Crouch, 2008).

Cuadro 9 Regiones del espectro infrarrojo

Región	Longitud de onda (λ), μm	Número de onda, cm^{-1}
Cercana	0.78 a 2.5	12 800 a 4000
Media	2.5 a 50	4000 a 200
Lejana	50 a 1000	200 a 10
La más utilizada	2.5 a 15	4000 a 670

(Skoog, Holler & Crouch, 2008)

El equipo de espectrofotometría emite radiación infrarroja que permite atravesar el material a analizar y medir la absorción producida en cierta longitud de onda. El resultado gráfico que se obtiene se le denomina espectro infrarrojo, el cual muestra la cantidad de energía absorbida contra el número de ondas (frecuencia) en la que se dio dicha absorción (Soriano & Barreto, 2018). Los espectros son característicos de cada compuesto, ya que cada uno exhibe un propio comportamiento para un enlace con un tipo atómico, concentración de enlace y entorno químico (Piqué & Vásquez, 2012). Cada banda corresponde a un movimiento de vibración de uno de los enlaces del compuesto, permitiendo así determinar la composición química de la muestra al comparar con espectros patrón (Soriano & Barreto, 2018).

L. Índice de cristalización

El índice de cristalización (IC) permite conocer la cantidad relativa de material cristalino en la celulosa. Este valor puede ser medido a través de técnicas como espectroscopía infrarroja (IR), resonancia magnética nuclear (RMN), rayos X (XRD) y espectroscopía de Raman. Se pueden emplear dos maneras para determinar el índice de cristalización utilizando espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (Hernández, 2018).

Para el índice de cristalinidad total, sugerido por Nelson y O'Connor, usaron el radio de absorbancia de 1372 cm⁻¹ (A₁₃₇₂) y 893 cm⁻¹ (A₂₉₀₀)

$$IC = \frac{A_{1372}}{A_{2900}}$$

Asimismo, el índice lateral propuesto por O'Connor, con el radio de absorbancia de 1430 cm⁻¹ (A₁₃₇₂) y 893 cm⁻¹ (A₈₉₃). Este índice es empírico y las absorbancias antes mencionadas son sensibles a la cantidad de estructura amorfa y cristalina de la celulosa. Siendo una estructura más desordenada un reflejo de bandas más anchas. Cabe mencionar que el método brinda solo valores relativos, ya que hay contribuciones de ambas regiones cristalinas y amorfas en el espectro (Hernández, 2018).

$$IC = \frac{A_{1430}}{A_{893}}$$

M. Difracción de rayos X

La técnica de difracción de rayos X se basa en la difracción que se da por un conjunto de átomos que poseen un arreglo ordenado. Se emplea para la caracterización de materiales cristalinos con estructura definida. Estos provocan una dispersión coherente, que se produce por la colisión de los electrones ligados a los átomos y los fotones incidentes (Betancourth *et al.*, 2010).

El material contiene muchos átomos, que al estar irradiados cada uno se convierte en una fuente de radiación coherente. Esta cantidad tan alta de átomos

promueve que entre los rayos X se de interferencia destructiva o constructiva. Esta última, al darse en ciertas direcciones se apreciará los máximos de intensidad en la difracción (Betancourth *et al.*, 2010).

Utiliza la Ley de Bragg que determina la condición que debe cumplirse para que se produzca la difracción. Se emplea el equipo difractometro de rayos X que suele tener un detector de centelleo, donde el ángulo varía a 2θ . Entre las aplicaciones de dicho análisis esta identificación de fases, medida de tensiones, determinación de estructuras cristalinas, estudios de texturas, entre otros (Skoog, Holler & Crouch, 2008).

1. Método Segal

El método Segal permite determinar la cristalinidad de la celulosa a través de un análisis previo por XRD. Este emplea los valores de ciertas intensidades del difractograma (Bolio *et al.*, 2011).

$$\text{Índice de Cristalinidad} = \frac{I_{200} - I_{AM}}{I_{200}}$$

Siendo, entonces I_{200} la intensidad máxima del pico con 22.5° y I_{AM} la intensidad del pico que se encuentra aproximadamente en 18° . Asimismo, para conocer la proveniencia de la celulosa bacteriana se utiliza la función discriminante Z . Esta especifica que si $Z < 0$ dicha celulosa será proveniente de madera o algodón y del tipo I_β . Para $Z > 0$ que es obtenida por bacterias o algas (Gopu & Govindan, 2018).

$$Z = [(1693 \times d_1) - (902 \times d_2) - 549]$$

Donde se presenta, los términos de d_1 y d_2 que corresponden a los picos de espaciamento en 110 y -1 (Gopu & Govindan, 2018).

VI. Metodología

A. Metodología experimental o investigación experimental

1. Unidades de análisis

- Celulosa bacteriana fabricada en el medio HS empleando diferentes fuentes de carbono.
- Espectro de celulosa vegetal por espectroscopía infrarroja para comparar con la celulosa bacteriana que se obtendrá.

B. Procedimiento

1. Procedimiento general

En la Figura 2 se presenta el esquema general de la metodología a seguir.

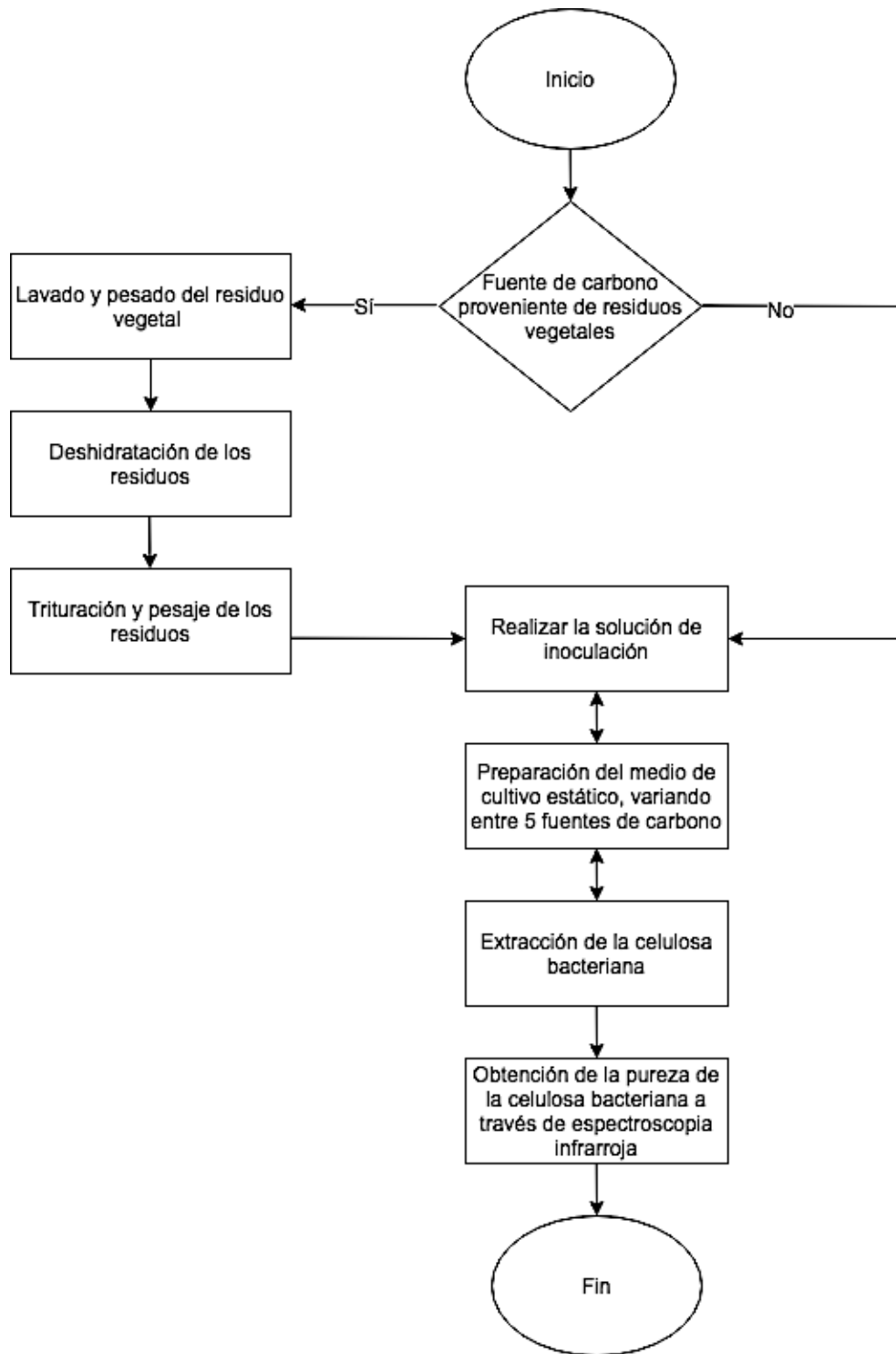


Figura 2 Procedimiento general

Elaboración propia

a. Materiales y equipo

1. Materiales

- Beakers 500ml
- Beakers 100ml
- Frascos 1000ml
- Pipeta 10ml
- Espatula
- Vidrio de reloj
- Balón aforado
- Probetas

2. Equipo

- Balanza analítica
- Incubadora
- Estufa
- Autoclave
- Potenciómetro
- Licuadora
- Termómetro
- Espectrómetro Infrarrojo

3. Reactivos

- Agua destilada
- Hidróxido de sodio
- Extracto de levadura de cerveza
- Peptona
- Fosfato disódico
- Ácido cítrico
- Ácido clorhídrico
- Maltosa
- Manosa

4. Materia Prima

- SCOBY
- Limones
- Piñas
- Papayas

b. Formulación de reactivos a utilizar

Cuadro 10 Fuentes de carbono para el medio HS

Compuesto	g/L
Cáscara de piña	20
Limón exprimido	20
Cáscara de papaya	20
Maltosa	20
Manosa	20

Elaboración propia

c. Preparación de residuos vegetales

Para los residuos vegetales (cáscaras de piña, limones exprimidos y cáscaras de papaya) el proceso que se realizó fue el pesaje de la materia inicial. Después, el lavado, deshidratado y triturado hasta que quedó en forma de polvo.

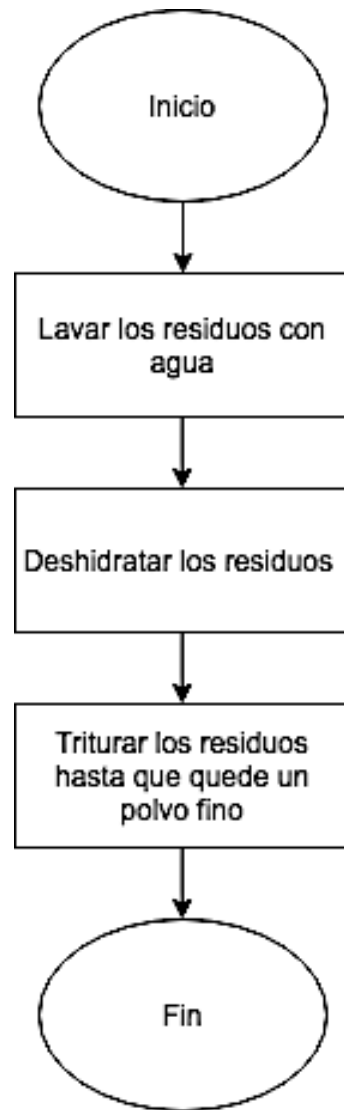


Figura 3 Preparación de residuos vegetales

Elaboración propia

d. Preparación de la solución de inoculación

Para la solución de inoculación se empleó el SCOBY de marca comercial White Labs. Para la preparación de dicha solución se realizó el pesaje de los componentes del medio de cultivo HS (cuadro 3). Posteriormente, se mezcló con

agua destilada, se tomó la medida del pH y se esterilizará por 15 minutos a 121°C. Por último, se integró fragmentos de SCOBY (2.5 % w/v) y se tapó con gasas para dejar en incubación por 7 días a una temperatura de 30°C (Hernández, 2018).

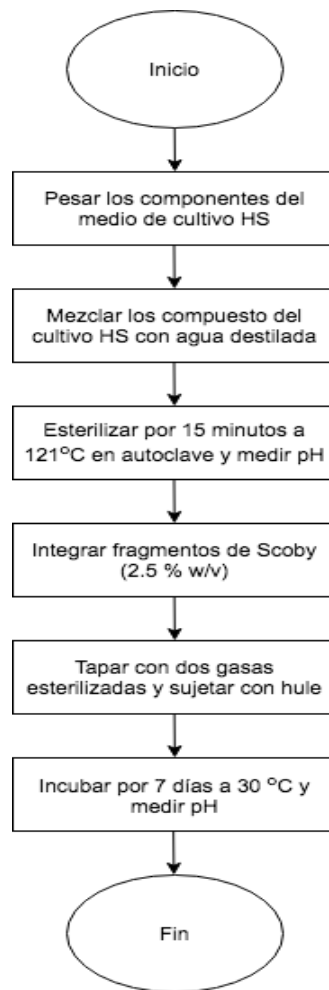


Figura 4 Preparación de solución de inoculación

Elaboración propia

e. Preparación e inoculación del medio de cultivo estático

En un beaker de 500 mL se depositó los compuestos del medio de cultivo Hestrin & Schramm(cuadro 3) variando entre las cinco fuentes de carbono, que se detallan en el cuadro 10. Se disolvió en agua destilada y se realizará la esterilización por 15 minutos a 121°C en autoclave. Posteriormente, se integró la solución de inoculación (10% v/v). Se realizó triplicado por cada fuente de carbono. Se verificó que el pH se encuentre en un rango de 5-6. Por último, se tapó con gasas esterilizadas y un hule para su posterior incubación por 14 días a 30°C (Soriano & Barreto, 2018).

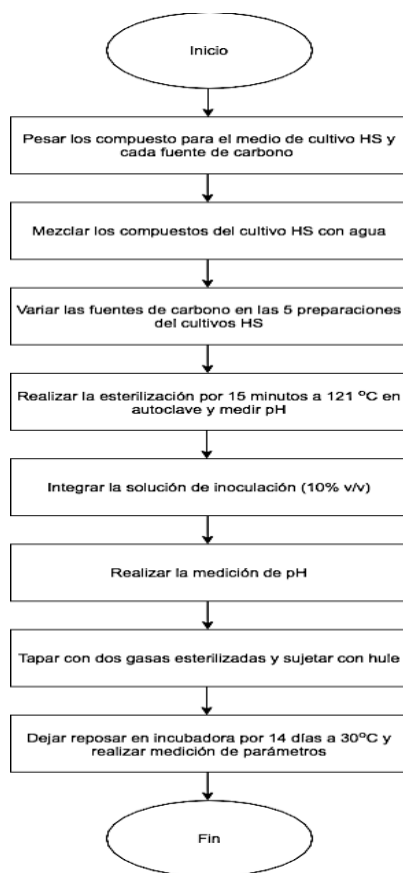


Figura 5 Preparación de muestras de cultivo

Elaboración propia

f. Extracción de celulosa bacteriana

Al transcurrir los 14 días de incubación, se retiró la celulosa bacteriana. Posteriormente, se eliminó impurezas que posea a través del calentamiento por 1 hora con una solución de hidróxido de sodio 0.5M. Luego se lavó tres veces con agua destilada. La celulosa se escurrió para que eliminará el exceso de agua. Para el caso de las celulosas de cáscara de piña, papaya, manosa y maltosa fueron secadas por 1 hora y media, y la proveniente del limón exprimido fue por 35 minutos, todas a 105°C y se pesaron. Se llevaron al posterior análisis de espectroscopía infrarroja con el espectrofotómetro PerkinElmer, donde se obtuvo el espectro IR de dichas celulosas (Soriano & Barreto, 2018).

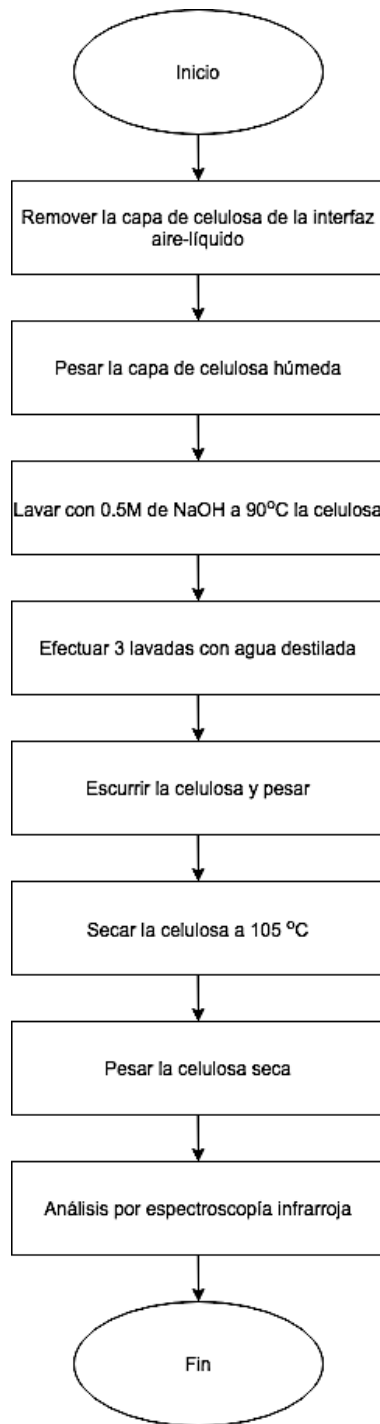


Figura 6 Extracción de celulosa

Elaboración propia

g. Análisis por difracción de rayos X

Se utilizó la muestra con mayor rendimiento, es decir, la celulosa bacteriana a partir de cáscara de papaya. La cual se pulverizó manualmente empleando un mortero de ágata para obtener un tamaño de partícula 75 μm . Posteriormente, se analizó con el equipo Panalytical Empyrean con detector PixCEL3D y se interpretó con el HighScore Plus Versión 4.8, donde se obtuvo el difractograma de dicha CB.

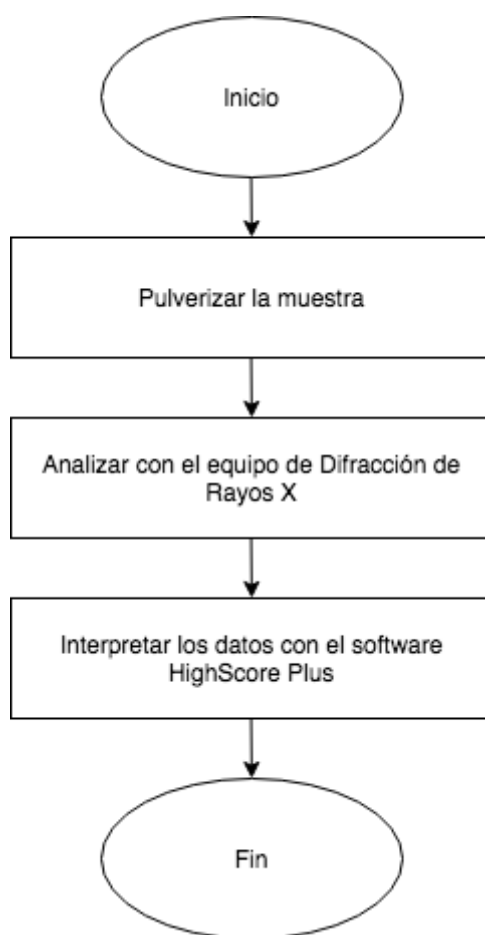


Figura 7 Análisis por difracción de rayos X

Elaboración propia

C. Metodología para el análisis de muestras de celulosa

1. Rendimiento de la fuente de carbono

Se medirá el rendimiento de la celulosa bacteriana fabricada a partir de una cantidad establecida de fuente de carbono en el medio. Después del proceso de secado se obtiene el valor del peso de la celulosa bacteriana.

$$\text{Rendimiento de fuente de carbono}(\%) = \frac{\text{Peso celulosa bacteriana } (\frac{g}{L})}{\text{Concentración de fuente de carbono } (\frac{g}{L})}$$

Para conocer si existe una diferencia significativa entre los valores de rendimiento según la fuente de carbono se empleará el análisis ANOVA de un factor, que permite determinar si las medias de dos o más grupos son significativamente diferentes (Hernández, 2018).

VII. Resultados

En el Cuadro 11 se observan los resultados del promedio y desviación estándar para la celulosa bacteriana húmeda y seca obtenida de las 5 diferentes fuentes de carbono. Asimismo, la Figura 8 muestra el peso de la CB húmeda en comparación a la CB seca. Se usaron los datos experimentales de los Cuadros 16 y 17 en el apartado de Anexos.

Cuadro 11 Peso promedio de celulosa bacteriana húmeda y seca según la fuente de carbono

Fuente de carbono	Peso CB en húmedo (± 0.0001 g)	Desviación estándar	Peso CB seca (± 0.0001 g)	Desviación estándar
Cáscara de piña	3.3619	0.6759	0.1425	0.0360
Cáscara de papaya	5.0922	0.6172	1.4623	0.4466
Limón exprimido	1.4470	0.5184	0.0605	0.0222
Maltosa	2.9717	0.6548	0.5113	0.0937
Manosa	2.4737	0.1808	0.0860	0.0050

Elaboración propia

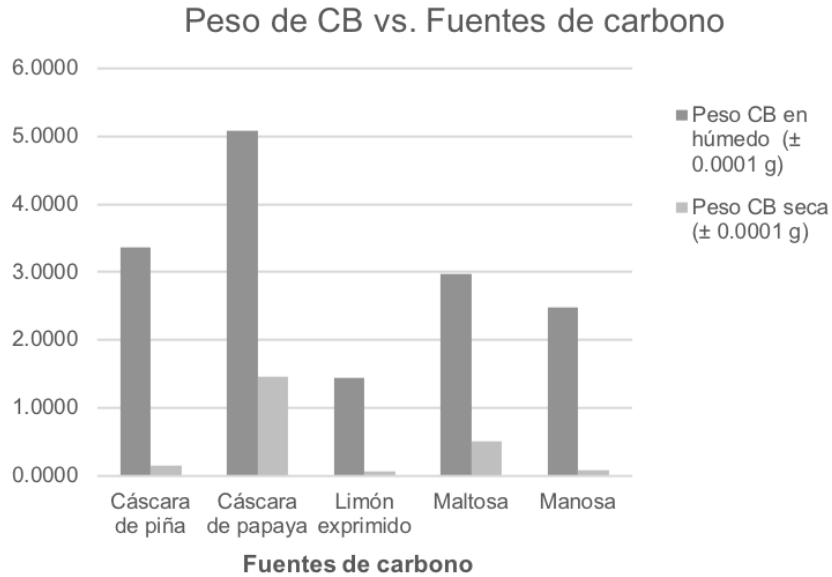


Figura 8 Comparación del peso de la celulosa bacteriana húmeda y seca según la fuente de carbono

Elaboración propia

En el Cuadro 12 se muestran los resultados de la producción y rendimiento promedio con la desviación estándar para la celulosa bacteriana seca obtenida de las 5 distintas fuentes de carbono. En la Figura 9, se observa la comparación de la producción de CB a partir de las 5 fuentes de carbono. Se usaron los datos del Cuadro 18 en el apartado de Anexos.

Cuadro 12 Valores promedio para la producción y rendimiento de la celulosa bacteriana seca respecto a la fuente de carbono

Fuente de carbono	Producción CB (g/L)	Desviación estándar	Rendimiento (%)	Desviación estándar
Cáscara de piña	0.5700 ± 0.1140	0.1439	2.8500 ± 0.0057	0.7196
Cáscara de papaya	5.8492 ± 0.9032	1.7862	29.2460 ± 0.0452	8.9312
Limón exprimido	0.2421 ± 0.0484	0.0889	1.2106 ± 0.0024	0.4444
Maltosa	2.0452 ± 0.4090	0.3750	10.2260 ± 0.0205	1.8749
Manosa	0.3440 ± 0.0689	0.0198	1.7200 ± 0.0034	0.0990

Elaboración propia

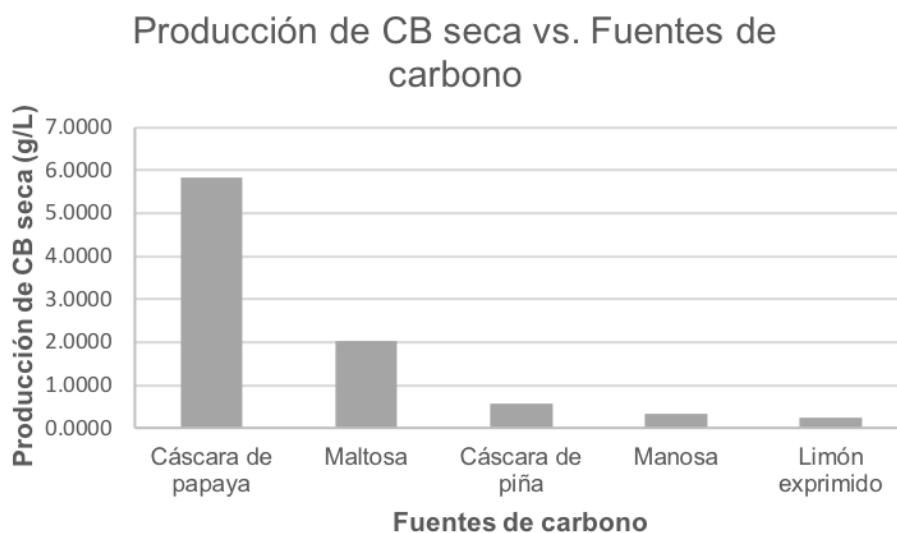


Figura 9 Comparación de la producción de celulosa bacteriana seca respecto a la fuente de carbono

Elaboración propia

Para verificar que las medias de los rendimientos de la producción de celulosa bacteriana de las 5 diferentes fuentes de carbono no son iguales, se aplicó análisis ANOVA de un factor. Se observa en el Cuadro 13 que el valor del estadístico F obtenido es de 5.8506 siendo mayor al 3.4780 del F crítico. En consecuencia, la fuente de carbono empleada tiene un efecto sobre el rendimiento de la producción de CB.






Cuadro 13 Análisis de ANOVA de un factor

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	987.5043	4	246.8760	5.8506	0.0108	3.4780
Dentro de los grupos	421.9615	10	42.1961			
Total	1409.4658	14				

Elaboración propia

La celulosa bacteriana presenta distintas características físicas dependiendo de la fuente de carbono utilizada.

Cuadro 14 Características físicas de la celulosa bacteriana según fuente de carbono empleada

Fuente de carbono	Apariencia y/o características físicas de la celulosa bacteriana	Imagen
Cáscara de piña	Forma circular y rugosa, color beige pálido, textura lisa y brillante, flexible, poca transparencia.	
Cáscara de papaya	Forma circular, color caramelo, textura lisa, mayor flexibilidad, poca transparencia.	
Limón exprimido	Forma indefinida, color amarillo entre claro y oscuro, textura rugosa, poca flexibilidad, nula transparencia.	
Maltosa	Forma indefinida, color cafe, textura lisa y pegajosa, mayor flexibilidad, poca transparencia .	
Manosa	Forma semi-triangular, color blanco amarillento, textura rugosa, nula flexibilidad, transparente.	

Elaboración propia

De la Figura 10-16 se aprecian los espectros infrarrojos de la celulosa bacteriana obtenida de las cinco diferentes fuentes de carbono empleadas. Así como del papel Whatmann sin ceniza y el espectro teórico de celulosa utilizados como referencia. Se utilizó el espectrofotómetro FT-IR PerkinElmer.

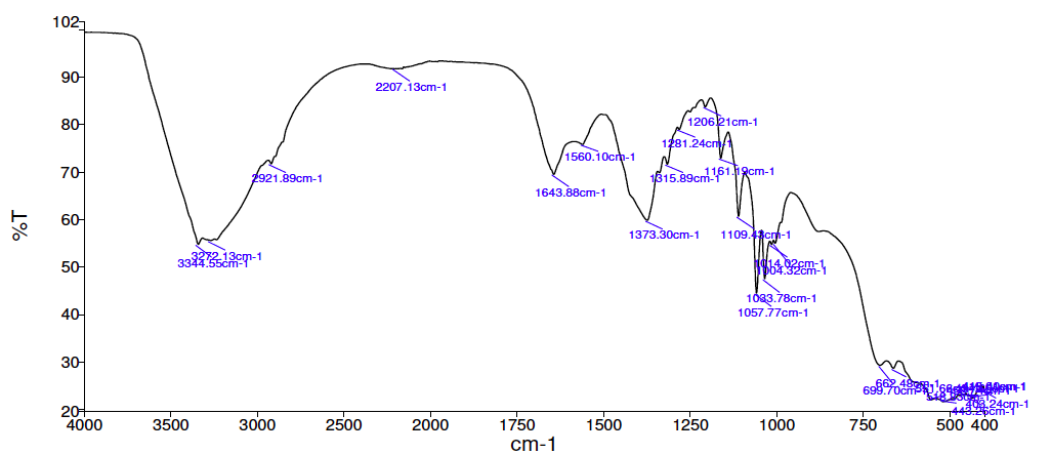


Figura 10 Espectro infrarrojo de la celulosa bacteriana obtenida empleando cáscaras de piña

Elaboración propia

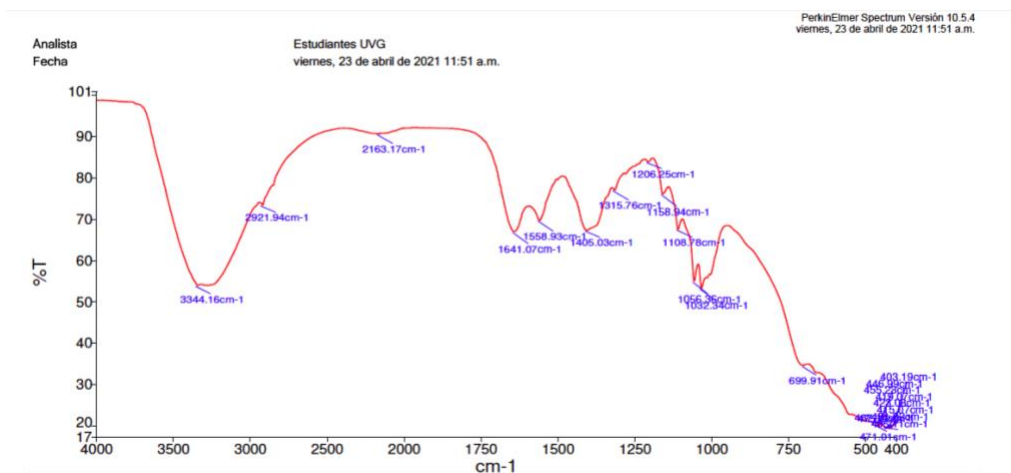


Figura 11 Espectro infrarrojo de la celulosa bacteriana obtenida empleando cáscaras de papaya
Elaboración propia

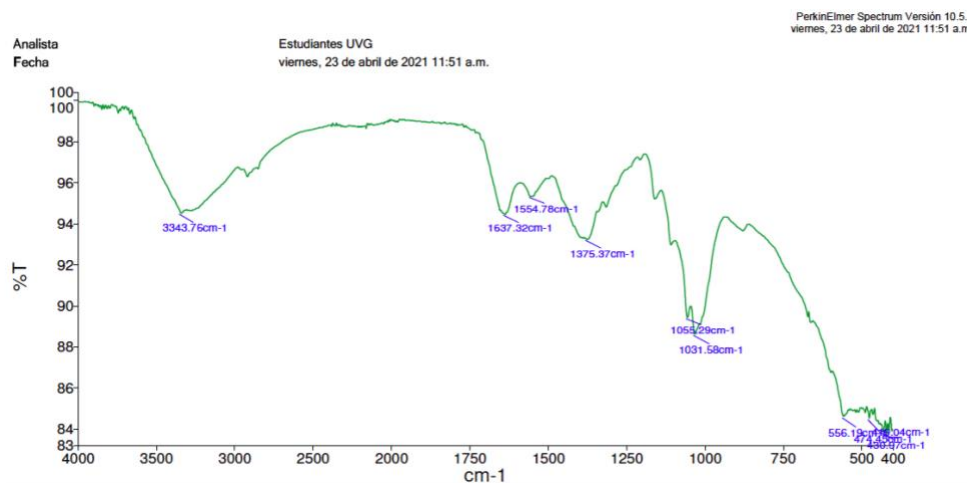


Figura 12 Espectro infrarrojo de la celulosa bacteriana obtenida empleando limón exprimido
Elaboración propia

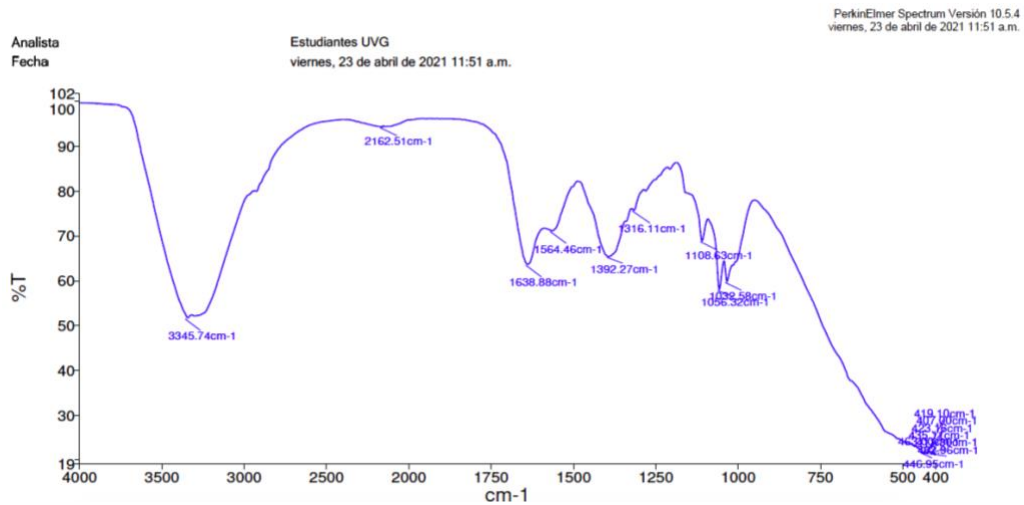


Figura 13 Espectro infrarrojo de la celulosa bacteriana obtenida empleando maltosa

Elaboración propia

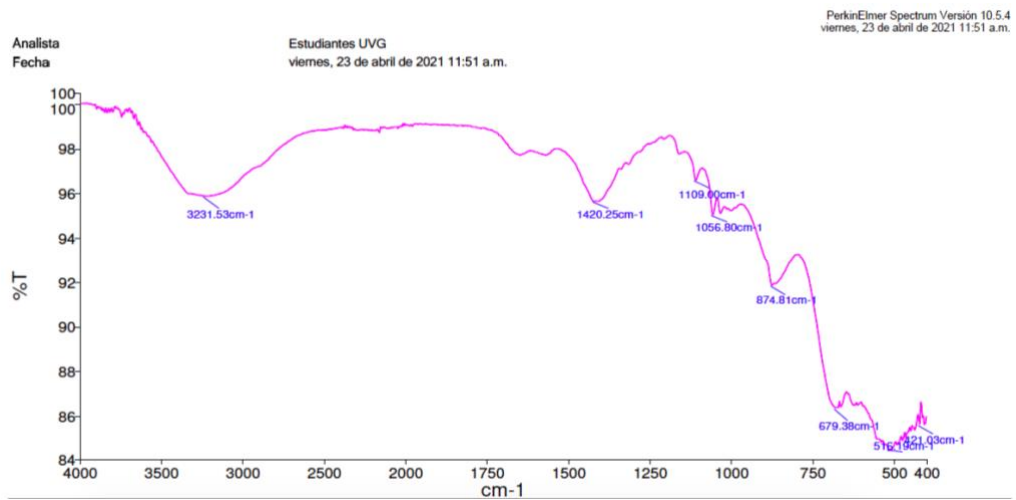


Figura 14 Espectro infrarrojo de la celulosa bacteriana obtenida empleando manosa

Elaboración propia

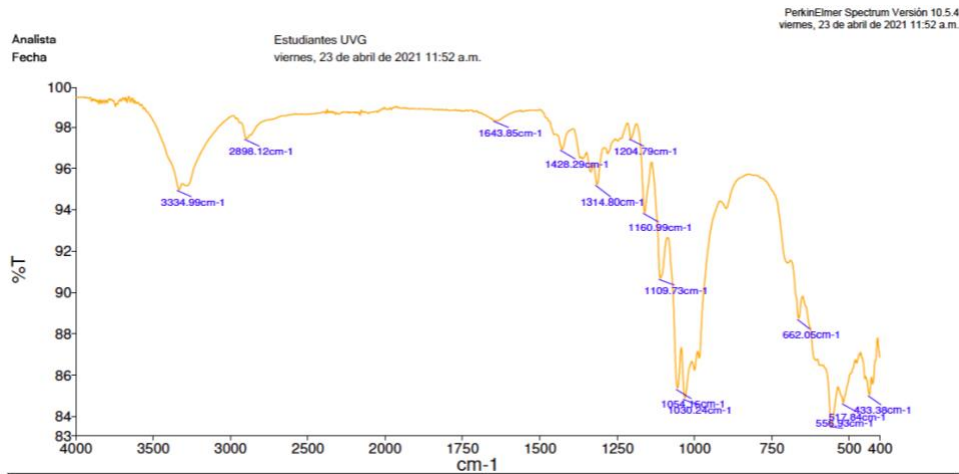


Figura 15 Espectro infrarrojo del papel Whatman sin ceniza
Elaboración propia

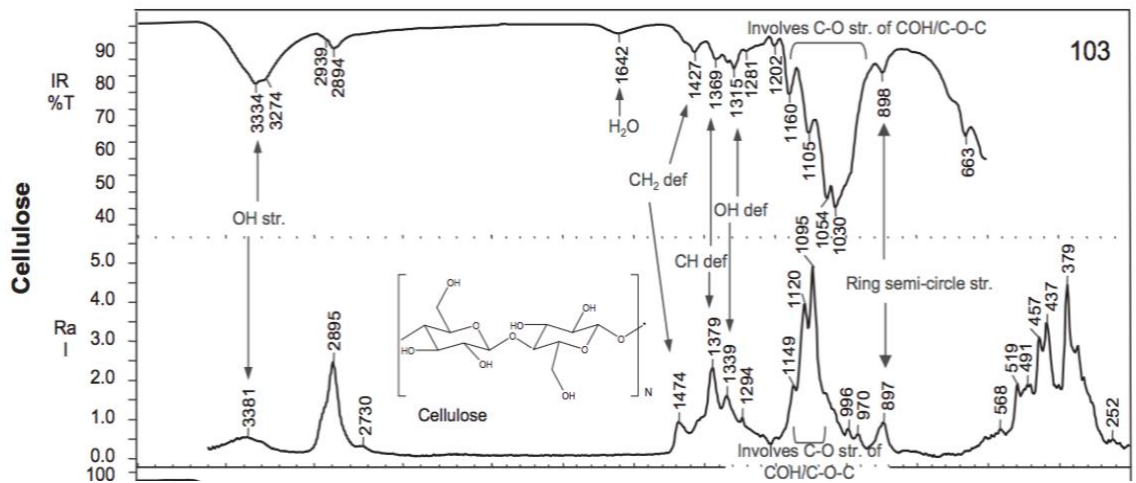


Figura 16 Espectro teórico infrarrojo y Raman para la celulosa
(Larkin, 2011)

En el Cuadro 15, se observan los picos característicos de la celulosa bacteriana obtenida de las cinco distintas fuentes de carbono usadas en comparación con los valores teóricos y el papel Whatman empleado como referencia.

Cuadro 15 Comparación de picos del espectro infrarrojo experimental de celulosa bacteriana según fuente de carbono con el teórico

Bandas de absorción teóricas (cm ⁻¹)	Bandas de absorción según Fuentes de Carbono (Cm ⁻¹)						Representación
	Papel Whatman	Cáscara de piña	Cáscara de papaya	Limón exprimido	Maltosa	Manosa	
663	662.05	662.48		556.19	463.41	679.38	Estiramiento del puente asimétrico para C-O-C ó COH
898		699.7	699.91	891		874.81	Estiramiento del puente asimétrico para C-O-C ó COH
1030	1030.24	1033.78	1032.34	1031.58	1032.58		Estiramiento del puente asimétrico para C-O-C ó COH
1054	1054.16	1057.77	1056.36	1055.29	1056.32	1056.8	Estiramiento del puente asimétrico para C-O-C ó COH
1105	1109.73	1109.43	1108.78		1108.63	1109	Vibración de valencia asimétrica de anillo C-C
1160	1160.99	1161.19	1158.94				Estiramiento del puente asimétrico para C-O-C ó COH
1315	1314.8	1315.89	1315.76		1316.11		Vibración de torsión OH
1369		1373.3	1405.03	1375.37	1392.27		Flexión del CH
1427	1428.29	1560.1	1558.93	1554.78	1564.46	1420.25	Vibraciones de flexión simétricas del CH ₂
1642	1643.85	1643.88	1641.07	1637.32	1638.88	1680	Agua
2894		2207.13	2163.17		2162.51		Estiramiento -CH
2939		2921.89	2921.94				Estiramiento -CH
3274	2898	3272.13					Estiramiento OH
3334	3334.99	3344.55	3344.16	3343.76	3345.74	3231.53	Estiramiento OH

Elaboración propia

En la Figura 17, se muestra el difractograma de la celulosa bacteriana a partir de cáscara de papaya, el cual obtuvo un 100% de coincidencia con la celulosa I_β. Se utilizó el equipo Panalytical Empyrean a potencia de 45W y detector PixCEL3D.

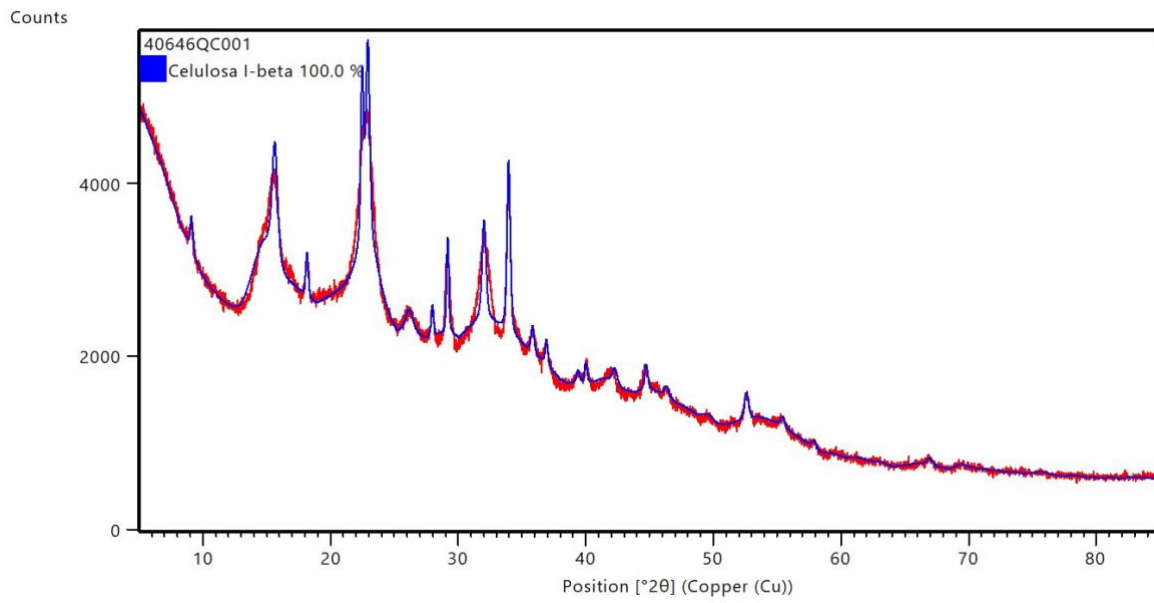


Figura 17 Difractograma de la celulosa bacteriana a partir de papaya
Análisis realizado por el Centro de Investigación y Desarrollo de Cementos Progreso

VIII. Análisis de resultados

A. Análisis de rendimiento de celulosa bacteriana

El objetivo de la investigación fue comparar el rendimiento y las características de la celulosa bacteriana a partir de distintas fuentes de carbono.

Cabe mencionar que sí fue posible obtener CB a partir de las 5 fuentes de carbono evaluadas, con diferentes rendimientos y características para cada una. Se puede observar en la Figura 8, una notable reducción de peso de la celulosa bacteriana de húmeda a seca, indicando la contribución del agua en esta. Por ejemplo, la proveniente de cáscara de papaya aunque obtuvo el valor más alto en el peso seco, paso de 5.0922 ± 0.0001 g peso húmedo descendiendo a un 1.4623 ± 0.0001 g de peso seco, lo cual corresponde a un 28.2954% de celulosa bacteriana seca obtenida. Caso contrario, con la cáscara de piña, limón exprimido y manosa, ya que los valores de porcentaje de CB en la muestra húmeda estuvo en un rango de 3.4794% a 4.5025%. Cabe mencionar que el limón exprimido tuvo el menor peso.

Ahora bien, el análisis de varianza demuestra que existe un efecto sobre el rendimiento al emplear cierta fuente de carbono. Por lo tanto, para las fuentes de carbono de residuos vegetales, la cáscara de papaya obtuvo un rendimiento de $29.2460 \pm 0.0452\%$, superior a las demás. Es posible que esto se deba a que la fruta posee una cantidad alta de azúcares totales, que pasan por una conversión en el microorganismo para formar la celulosa (Carreño, Caicedo & Martínez, 2012).

Además, posee otros compuestos entre ellos los minerales de calcio, fósforo, magnesio, potasio y sodio (USDA, s.f) que contribuyen a un mejor desarrollo de la

celulosa bacteriana (Castro, 2015), dado que son cofactores enzimáticos en la producción de dicho polisacárido. Específicamente, el magnesio, un elemento esencial para el metabolismo celular, que participa en las actividades de síntesis y vinculación entre las subunidades de la CB (Milleo *et al.*, 2013).

Sin embargo, tanto la cáscara de piña como el limón exprimido tuvieron un rendimiento menor a la papaya, este último no contiene una porción elevada de azúcares. Cabe mencionar, que estas fuentes poseen una cantidad inferior de los minerales mencionados anteriormente, pudiendo afectar este hecho en la producción de CB.

En cuanto a las fuentes de reactivos grado analíticos, la maltosa (10.2260 ± 0.0205 %) tuvo mayor rendimiento que la manosa (1.7200 ± 0.0034 %). Sin embargo, su rendimiento fue menor que el obtenido para la cáscara de papaya, pero mayor al de las otras fuentes naturales. Es posible que el alto rendimiento de la maltosa pueda deberse a que es un disacárido degradado por hidrólisis en las células presentes de las levaduras para la obtención de dos moléculas de glucosa y mejora la capacidad de fermentación (Zhang *et al.*, 2015). Asimismo, es metabolizado rápidamente por las bacterias para la obtención de glucosa (Monrini *et al.*, 2017).

En el caso de la manosa, este es un monosacárido que no es convertido fácilmente por los microorganismos del SCOBY que se encargan de la fabricación de CB, principalmente las *Gluconobacter* (Kadere *et al.*, 2008), ya que el proceso requiere una primera fosforilación para obtener manosa-6-fosfato y después una conversión a fructuosa-6-fosfato para seguir el proceso a otras reacciones que permitan generar glucosa (Sharma, Ichikawa & Freeze, 2014). Además, ciertas especies de *Acetobacter* son incapaces de producir ácido empleando D-manosa (Spitaels, 2014).

Por lo tanto, se da una producción con mejores rendimientos empleando una fuente natural. En este caso la cáscara de papaya, ya que tienen una mayor cantidad de azúcares. Así como un conjunto de minerales que actúan como cofactores enzimáticos facilitando la fabricación de la CB . Además, está sujeto al tipo de microorganismo utilizado, puesto que existen especies tanto de levaduras como bacterias que son incapaces de sintetizar CB a partir de ciertas fuentes de carbono.

B. Análisis de espectros IR

Se puede observar en el Cuadro 15, que la celulosa bacteriana producida de las cinco distintas fuentes de carbono coincidió en la mayoría de picos y no difirieron significativamente del estándar, lo cual indica que se obtuvo CB relativamente pura en todos los casos.

La CB obtenida de todas las fuentes de carbono mostró la banda de absorción en 3334 cm^{-1} correspondientes al estiramiento del OH (Wade, 2017). Algo característico de dicha banda es su estiramiento pronunciado que se aprecia en los espectros de cáscara de piña, papaya y maltosa, esto ocurrió debido a que estas muestras contaban con un mayor porcentaje de humedad, puesto que su textura era más viscosas al tacto. Mientras que apareció levemente en las proveniente de manosa y limón exprimido, dado que eran duras al tacto y secas.

Ahora bien, en el pico que está en el rango de $2930\text{-}2940\text{ cm}^{-1}$, muestra vibración de estiramiento -CH que revela la presencia de un grupo funcional metileno/metil (Gopu & Govindan, 2018). También, se encuentra el pico en 1642 cm^{-1} que representa el agua, es decir, el agua absorbida con vibraciones de flexión

de celulosa (Gopu & Govindan, 2018). Este lo presentaron todos pero con una cierta diferencia en la longitud, por ejemplo, la manosa a una transmitancia más abajo.

Asimismo, el pico entre $1427-1500\text{ cm}^{-1}$ infiere la deformación o vibraciones de flexión simétricas del CH_2 (Wade, 2017). Esto es característico de la celulosa tipo I (Gopu & Govindan, 2018) y se encuentra en todas las CB experimentales. En el rango de $1610-1550\text{ cm}^{-1}$, los picos simbolizan tensión del grupo hidroxilo por presencia de ácidos carboxílicos. De igual modo, que el anterior está presente en cada una de las CB pero como se mencionó antes con cierto corrimiento. En caso del pico $1369-1379\text{ cm}^{-1}$ aparece la deformación o flexión del CH, el cual se halla en la piña, papaya, limón y maltosa.

En el caso, de la cáscara de piña y limón exprimido, presentaron una intensidad mediana, en el rango de $1380-1370\text{ cm}^{-1}$ que representa la torsión del C-H por el alcano. Igualmente, para la cáscara de papaya y la maltosa, exhibe la presencia de alcano pero, los picos son más pronunciados. Igualmente, el pico en 1315 cm^{-1} es por la presencia de vibración de torsión O-H y tensión C-O por alcoholes (ya sea primarios o secundarios).

Los picos desde $1160-600\text{ cm}^{-1}$ indican la presencia del estiramiento del puente asimétrico para C-O-C ó COH en la celulosa (Biyik & Çoban, 2017), que se encarga de conservar unidas las unidades monoméricas de glucosa por medio del enlace beta 1-4, glucosídico (Gopu & Govindan, 2018). Cabe mencionar, que todos obtuvieron picos en este rango.

Específicamente, el pico entre $1102.4-1105\text{ cm}^{-1}$ presente en las CB de piña, papaya, maltosa y manosa demuestra vibración de valencia asimétrica de anillo C-C, que es característico de la celulosa. Justamente por 1026.55 cm^{-1} se da por la

presencia de estiramiento C-O en el polímero (Hernández, 2018) obtenido en la CB a partir cáscara de piña, papaya, limón exprimido y maltosa, así como en el papel Whatman.

Los resultados fueron consistentes con respecto a la literatura y el espectro de referencia, ya que se dio la aparición de picos significativos. Además, las fuentes de carbono que mostraron una celulosa bacteriana con mayor pureza fueron la cáscara de papaya, cáscara de piña y maltosa. Dado que presentaron una cantidad superior de bandas características a la celulosa y pocas bandas adicionales que no corresponden al estándar.

C. Análisis de características físicas

Según la literatura, la CB seca suele tener una apariencia rugosa, con flexibilidad y un grosor menor al de la celulosa bacteriana húmeda, incluso quebradizas en áreas que son más delgadas. Asimismo, tonalidades marrones a amarillas claras (Soriano & Barreto, 2018). Sin embargo, esto puede variar según la coloración del medio de cultivo (Parant, 2005) y es común que tomen la forma del recipiente que la contiene (Carreño, Caicedo & Martínez, 2012).

En el Cuadro 14, se muestran las características físicas de las distintas celulosas obtenidas de fuentes naturales y sintéticas. Como puede observarse para la CB a partir de la cáscara de piña y papaya estas presentaron una forma bastante circular así como tonalidades cafés pálidas y amarillentas, esto estuvo influenciado por la coloración de las cáscaras que le confirieron ese matiz al medio de cultivo (Parant, 2005), ya que estas se encontraban entre distintos tonos. Sus texturas al tacto eran lisas y levemente pegajosas, dándole ese brillo característico. Sin

embargo, tenían una apariencia rugosa. Ambas podían ser dobladas sin que se rompieran, siendo bastantes manejables.

Ahora bien, para la CB de limón exprimido su coloración amarilla correspondía al color que tenía dicha fruta. Su forma indefinida, se pudo deber a que no disponían de suficiente fuente de carbono para seguir creciendo hasta llenar el envase que la contenía. Además, no era flexible e incluso estaba dura al tacto y totalmente seca, indicando una menor humedad.

Igualmente, ocurrió con la manosa que se encontraba tostada y rugosa. También, al ser una fuente pura y el color del reactivo totalmente blanco contribuyó a una tonalidad más clara que las otras celulosas. Con respecto a la transparencia, solamente la proveniente de manosa permitió ver a través de ella y la maltosa que tenía algunas áreas en las que se apreciaba este hecho. Está última, contenía más tramos viscosos con leve sensación a húmedo en las réplicas. Este hecho se le atribuye a una presencia de agua en estas muestras, dado que no estaban totalmente secas.

Por consiguiente, la celulosa bacteriana a partir de las cinco distintas fuentes de carbono mostró una tonalidad de marrón a amarillo claro. Así como, apariencia rugosa, flexibilidad variable y forma semicircular para la cáscara de piña, cáscara de papaya y manosa siendo acorde con respecto a la literatura.

D. Análisis de difracción de rayos X

Según Gopu & Govindan (2018), el difractograma de la celulosa bacteriana presenta picos característicos en los ángulos de aproximadamente 16° , 18° y 22.5° .

Este último es la intensidad amorfa y estos ángulos con sus respectivos picos representan el plano cristalográfico para la celulosa I_β.

En la Figura 16, se observa que los patrones obtenidos del difractograma de la celulosa bacteriana a partir de cáscara de papaya son similares al patrón de celulosa I. Además, aparecen en los ángulos 15.6503°, 18.1706° y 22.4861° los picos característicos de la celulosa I_β con una coincidencia del 100%. Esto indica que la CB tiene celdas unitarias monoclinicas de dos cadenas, dado por los enlaces hidrógeno (Poletto, Heitor & Zattera, 2014). Asimismo, este tipo de celulosa I es naturalmente sintetizado por bacterias así como plantas (Naomi, Idrus & Fauzi, 2020).

Por último, se pudo comparar el rendimiento y las características de la celulosa bacteriana producida por un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras al utilizar las fuentes de carbono de maltosa, manosa, cáscaras de piña, limón exprimido, cáscara de papaya. Así como determinar su pureza por espectrofotometría infrarroja y difracción de rayos X. Mostrando la factibilidad y productividad al utilizar fuentes de carbono naturales altas en azúcares y minerales. Asimismo, empleando un método sencillo y escalable.

Conjuntamente, se evidenció que la cáscara de papaya tiene un mayor rendimiento de producción de CB y alta pureza con una coincidencia del 100% para celulosa I_β. Permitiendo así que el sector industrial pueda llegar a producir CB a un menor costo y abriendo la posibilidad de que este biomaterial sea empleado en apósitos para piel e incluso como sustituto al plástico de un solo uso, contribuyendo en áreas como medicina hasta alimentos y diseño. Además, aportando en la disminución de la contaminación por dichos residuos vegetales.

IX. Conclusiones

La fuente de carbono que mostró un mayor rendimiento fue la cáscara de papaya con un $29.2460\% \pm 0.0452\%$, posiblemente esto es debido a que contiene un valor más alto de azúcares totales y minerales que mejoran el desarrollo de la celulosa bacteriana.

El menor rendimiento lo presentó el limón exprimido con $1.2106 \pm 0.0024\%$, dado que probablemente este residuo posee una cantidad inferior de azúcares y de los minerales como magnesio, sodio y potasio.

La fuente de reactivo grado analítico, maltosa, exhibió un rendimiento superior al de la manosa, esto puede deberse a la estructura molecular y la capacidad diferente de metabolizar dichos compuestos por las bacterias productoras de CB.

El análisis por espectrofotometría infrarroja evidenció que la celulosa bacteriana a partir de cáscara de papaya, de piña y maltosa mostraron una cantidad mayor de bandas significativas de la celulosa y el pico característico de la celulosa tipo I.

La apariencia de la CB de las distintas fuentes de carbono fue en su mayoría una lámina de poco grosor, entre tonalidades marrones a amarillas y rugosas.

La celulosa bacteriana a partir de cáscara de papaya presentó un difractograma con patrones similares con una coincidencia del 100% para celulosa tipo I β , indicando que posee una forma monoclinica.

La celulosa bacteriana obtenida a partir de cáscara de papaya demostró tener el mejor rendimiento, pureza y características físicas acorde con la literatura y los espectros de referencia.

X. Recomendaciones

Fabricar celulosa bacteriana a partir de mezclas con las distintas fuentes de carbono que presentaron una mayor producción. Posteriormente, determinar la concentración a la cual dan un mejor rendimiento.

Explorar la utilización de otros residuos vegetales que se produzcan en grandes cantidades y que además posean distintos nutrientes como hierro, magnesio, potasio, sodio y fósforo que colaboran a una mayor fabricación de CB.

Considerar por separado el peso húmedo de las distintas celulosas bacterianas fabricadas, ya que este influirá en tener diferentes tiempos de secado para cada una, asegurando así una duración adecuada para obtener CB en condiciones óptimas.

Realizar el análisis por la técnica de espectrometría de rayos X, para todas las muestras de celulosa bacteriana. Con el fin, de conocer el valor cuantitativo para la cristalinidad de las CB así como su comparación entre ellas.

Se recomienda emplear un solo microorganismo para poder determinar si el valor del rendimiento se debe a la fuente de carbono o a la capacidad metabólica del microorganismo de sintetizar celulosa bacteriana a partir de la fuente de carbono proporcionada.

XI. Bibliografía

Azeredo, H., Barud, H., Farinas, C., Vasconcellos, V., Claro, A. (2019). *Bacterial cellulose as a raw material for food and food packaging applications*. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3(7), 1-14. doi: [10.3389/fsufs.2019.00007](https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00007)

Bandyopadhyay, S., Saha, N., Vrabic, U., Saha, P. (2018). *Bacterial cellulose based greener packaging material: A bioadhesive polymeric film*. *Materials Research Express*, 11(5). doi: <https://doi.org/10.1088/2053-1591/aadb01>

Betancourth, D., Gómez, J., Mosquera, J., Tirado, L. (2010). *Análisis por difracción de rayos X de rocas provenientes de región esmeraldífera*. *Scientia et Technica*, 16(44), 257-259.

Biyik, H., Çoban, E. (2017). *Evaluation of different carbon, nitrogen sources and industrial wastes for bacterial cellulose production*. *European Journal of Biotechnology and Bioscience*, 5(1), 74-80.

Bolio, G., Valadez, A., Veleza, L., Andreeva, A. (2011). *Whiskers de celulosa a partir de residuos agroindustriales de banano: Obtención y caracterización*. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 10(2), 291-299.

Carreño, L., Caicedo, L., Martínez, C. (2012). *Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión*. *Ingeniería y Ciencia*, 8(16), 307-335.

Castro, M. (2015). *Determinación de las condiciones de cultivo para la producción de celulosa por la bacteria nativa Gluconacetobacter medellinensis*. Universidad Pontificia Bolivariana. Colombia. 105págs.

Cazón, P., Vázquez, M. (2021). *Bacterial cellulose as a biodegradable food packaging material: A review*. Food Hydrocolloids, 113, 1-9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106530>

Chávez, J., Martínez, S., Contreras, M., Escamilla, E. (2004). *Celulosa bacteriana en Gluconacetobacter xylinum: Biosíntesis y aplicaciones*. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 7(1), 18-25.

Choi, S., Shin, E. (2020). *The nanofication and functionalization of bacterial cellulose and its applications*. Nanomaterials, 10(3), 406. doi: <https://doi.org/10.3390/nano10030406>

Fu, L., Zhang, J., Yang, G. (2012). *Present status and applications of bacterial cellulose-based materials for skin tissue repair*. Carbohydrate Polymers, 92(2), 1432-1442. doi: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.10.071>

Fuentes, L., Tapia, A., Jiménez, S, et al. (2003). *Bacterias acéticas: diversidad e interacción con las plantas*. Universidad Autónoma de Puebla, México. 6 págs.

Gopu, G., Govindan, S. (2018). *Production of bacterial cellulose from Komagataeibacter saccharivorans strain BC1 isolated from rotten green grapes*. Taylor & Francis, 48(9), 842-852. doi: <https://doi.org/10.1080/10826068.2018.1513032>

Gorgieva, S. (2020). *Bacterial cellulose as a versatile platform for research and development of biomedical materials*. Processes, 8 (5), 624. doi: <https://doi.org/10.3390/pr8050624>

Granda, B., Estupiñán, L. (2019). *Estudio de factibilidad para la elaboración de una bebida tipo kombucha a base de té de guayusa(Ilex guayusa)*. Universidad de Guayaquil. Ecuador.103 págs.

Guzmán, J. (2015). *Prevención, reducción y control de la contaminación generada por la industria citrícola al medio ambiente: depuración de efluentes mediante procesos de oxidación avanzada*. Universidad de Zaragoza. España. 421 págs.

Hernández, L. (2018). *Determinación de rendimiento y caracterización de la producción de celulosa bacteriana de Kombucha*. Universidad Rafael Landívar. Guatemala. 108 págs.

Hestrin, S., Schramm, M. (1954). *Synthesis of cellulose by Acetobacter xylinum. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose*. Biochemical Journal, 58(2), 345-352. doi: <https://doi.org/gjh45w>

Houghton, J., Brandt, A. (2006). *Fermentation of high concentrations of maltose by Saccharomyces cerevisiae is limited by the COMPASS methylation complex*. Applied and Environmental Microbiology, 72(11), 7176-7182. doi: <https://doi.org/bmcq29>

Kadere, T., Miyamoto, T., Oniang, R., Kutima, P., Njoroge, S. (2008). *Isolation and identification of the genera Acetobacter and Gluconobacter in coconut toddy(mnazi)*. African Journal of Biotechnology, 7(16), 2963-2971.

Kongruang, S. (2008). *Bacterial Cellulose Production by Acetobacter xylinum. Strains from agricultural waste products*. Applied Biochemistry and Biotechnology, 148, 245-256. doi: <https://doi.org/cdt538>

Larkin, P. (2011). *IR and Raman Spectroscopy. Principles and spectral interpretation*. 1ª ed. Elsevier. Estados Unidos. 239 págs.

Lin, K., Lin, H. (2006). *Quality characteristics of chinese-style meatball containing bacterial cellulose (Nata)*. Journal of Food Science, 69(3). doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb13378.x>

Llop, A., Valdés, M., Zuazo, J. (2001). *Microbiología y Parasitología Médicas*. La Habana, Cuba. Editorial Ciencias Médicas. 550 págs.

López, M., WingChing, R., Rojas, A. (2014). *Meta-Análisis de los subproductos de Piña (Ananas comosus) para la alimentación animal*. Agronomía Mesoamericana, 25(2), 383-392. doi: <https://doi.org/10.15517/am.v25i2.15453>

Lustri, W., Gomez, H., Barud, H., Peres, M., Gutierrez, J., Tercjak, A., Batista, O., Lima, S. (2015). *Microbial cellulose - Biosynthesis Mechanisms and Medical Applications*. InTech, 133-157. doi: <http://dx.doi.org/10.5772/61797>

Mejía, G., Vides, J., (2018). *Cultivo de papaya (Carica papaya L.)*. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal “Enrique Álvarez Córdova”. Guatemala. 43 págs.

Milleo, D., Aparecida, R., Ferreira, A., Woiciechowski, A., Wosiacki, G. (2013). *Minerals consumption by Acetobacter xylinum on cultivation medium on coconut water*. Brazilian Journal of Microbiology, 44(1), 197-206. doi: [10.1590/S1517-83822013005000012](https://doi.org/10.1590/S1517-83822013005000012)

Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación. 2014. *Perfil comercial limón*. Guatemala. 11 págs

Moniri, M., Boroumand, A., Azizi, S., Rahim, R., Bin, A., Zuhainis, W., Navaderi, M., Mohamad, R. (2017). *Production and status of bacterial cellulose in biomedical engineering*. Nanomaterials, 7(9), 257. doi: <https://doi.org/10.3390/nano7090257>

Mukadam, T., Punjabi, K., Deshpande, S., Vaidya, S., Chowdhary, A. (2016). *Isolation and characterization of bacteria and yeast from Kombucha Tea*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6(5), 32-41. doi: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.506.004>

Naomi, R., Idrus, R., Fauzi, B. (2020). *Plant- vs. Bacterial-Derived Cellulose for Wound Healing: A Review*. International Journal of Environmental Research and Public Health, 17(18), 6803. doi: <https://dx.doi.org/10.3390/ijerph17186803>

Navarro, M. (2018). *Obtención de celulosa bacteriana a partir de Gluconacetobacter sp. Mediante fermentación de extractos de frutas de descarte*. Universidad Católica Sedes Sapientiae. Perú. 106 págs.

Niyazbekova, T., Nagmetova, Z., Kurmanbayev, A. (2018). *An overview of bacterial cellulose applications*. Eurasian Journal of Applied Biotechnology, 2. doi: [10.11134/btp.2.2018.3](https://doi.org/10.11134/btp.2.2018.3)

Okiyama, A., Motoki, M., Yamanaka, S. (1993). *Bacterial cellulose IV. Application to processed foods*. Food Hydrocolloids, 6(6), 503–511. doi: [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(09\)80074-X](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(09)80074-X)

Parant, N. (2005). *Elaboración de gel celulósico (nata) producido por Acetobacter xylinum sobre jugo de arándano (Vaccinium corymbosum)*. Tesis Universidad Austral. Chile. 57 págs.

Paximada, P., Koutinas, A., Mandala, I. (2016). *Effect of bacterial cellulose addition on physical properties of WPI emulsions. Comparison with common thickeners*. Food Hydrocolloids, 54, 245–254. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.10.014>

Pineda, L., Caicedo, L., Martínez, C. (2012). *Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión*. Ing. Cienc., 16(8), 307-335.

Piqué, T., Vázquez, A. (2012). *Uso de Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier(FTIR) en el estudio de la hidratación del cemento*. Concreto y Cemento, 2(3), 62-71.

Poletto, M., Heitor, L., Zattera, A. (2014). *Native cellulose: Structure, characterization and thermal properties*. *Materials*, 7(9), 6105-6119. doi: <https://doi.org/10.3390/ma7096105>

Poyrazoglu, E., Biyik, H. (2011). *Evaluation of different pH and temperatures for bacterial cellulose production in HS (Hestrin-Scharmm) medium and beet molasses medium*. *African Journal of Microbiology Research*, 5(9), 1037-1045. doi: <https://doi.org/10.5897/AJMR11.008>

Sharma, V., Ichikawa, M., Freeze, H. (2014). *Mannose metabolism: more than meets the eye*. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 453(2), 220-228. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.06.021>

Skoog, D., Holler, F., Crouch, S. (2008). *Principios de Análisis Instrumental*. Sexta edición, CENGAGE Learning, México. 1063 págs.

Son, C., Chung, S., Lee, J., Kim, S. (2002). *Isolation and cultivation characteristics of Acetobacter xylinum KJ-1 producing bacterial cellulose in shaking cultures*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12(5), 722-728.

Soriano, J., Barreto, M. (2018). *Síntesis y estudio de propiedades de celulosa bacteriana obtenida de piña y banano, inoculados con kombucha*. Universidad de Guayaquil. Ecuador. 95 págs.

Spitaels, F., Leilei, L., Wieme, A., Balzarini, T., Cleenwerck, L., Van Landschoot, A., De Vuyst, L., Vandamme, P. (2014). *Acetobacter lambici sp. nov., isolated from*

fermenting lambic beer. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 66(4), 1083-1089. doi: <https://doi.org/10.1099/ijs.0.057315-0>

Sukara, E., Meliawati, R. (2014). *Potential Values of Bacterial cellulose for industrial applications*. Jurnal Selulosa, 1(4), 7-16. DOI: [10.25269/jsel.v4i01.51](https://doi.org/10.25269/jsel.v4i01.51)

USDA. (s.f.). *Full Report (All Nutrients): 9266 Pineapple, raw, all varieties; 9150 Lemons, raw, without peel; 167749 Lemon peel, raw; 9226 Papayas, raw*. United States Department of Agriculture.

Vázquez, E., Mata, H., Ariza, R., Santamaría, F. (2010). *Producción y manejo postcosecha de papaya maradol en la planicie Huasteca*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, primera edición. México. 180 págs.

Wade, L. (2017). *Química Organica*. 9ª ed. Pearson. México. 680 págs.

Zhu, H., Yang, H., Tang, W., Jia, Y., Tan, Z. (2010). *Characterization of bacteriostatic sausage casing: A composite of bacterial cellulose embedded with ϵ -polylysine*. Food Science and Biotechnology, 19, 1479-1484. doi: <https://doi.org/10.1007/s10068-010-0211-y>

XII. Anexos

A. Datos obtenidos

Cuadro 16 Peso y promedio de la celulosa bacteriana húmeda según la fuente de carbono

Fuente de carbono	Réplica	Peso CB húmeda (± 0.0001 g)	Promedio (± 0.0001 g)
Cáscara de piña	1	3.8819	3.3619
	2	2.5979	
	3	3.6058	
Cáscara de papaya	1	5.0022	5.0922
	2	5.7495	
	3	4.5249	
Limón exprimido	1	1.6811	1.4470
	2	1.8071	
	3	0.8528	
Maltosa	1	3.0804	2.9717
	2	3.5654	
	3	2.2694	
Manosa	1	2.4529	2.4737
	2	2.6640	
	3	2.3041	

Elaboración propia

Cuadro 17 Peso y promedio de celulosa bacteriana seca respecto a la fuente de carbono

Fuente de carbono	Réplica	Peso CB seca (\pm 0.0001 g)	Promedio (\pm 0.0001 g)
Cáscara de piña	1	0.1408	0.1425
	2	0.1793	
	3	0.1074	
Cáscara de papaya	1	1.4782	1.4623
	2	1.9007	
	3	1.0080	
Limón exprimido	1	0.0861	0.0605
	2	0.0459	
	3	0.0496	
Maltosa	1	0.5779	0.5113
	2	0.5519	
	3	0.4041	
Manosa	1	0.0846	0.0860
	2	0.0915	
	3	0.0819	

Elaboración propia

Cuadro 18 Producción y rendimiento de la celulosa bacteriana seca según la fuente de carbono

Fuente de carbono	Réplica	Producción de CB (g/L)	Rendimiento (%)
Cáscara de piña	1	0.5632 \pm 0.1126	2.8160 \pm 0.0056
	2	0.7172 \pm 0.1434	3.5860 \pm 0.0071
	3	0.4296 \pm 0.0859	2.1480 \pm 0.0042
Cáscara de papaya	1	5.9128 \pm 1.1826	29.5640 \pm 0.0591
	2	7.6028 \pm 0.5205	38.0140 \pm 0.0760
	3	4.0320 \pm 0.8064	20.1600 \pm 0.0320
Limón exprimido	1	0.3444 \pm 0.0689	1.7220 \pm 0.0034
	2	0.1836 \pm 0.0367	0.9180 \pm 0.0018
	3	0.1984 \pm 0.0397	0.9920 \pm 0.0019
Maltosa	1	2.3116 \pm 0.4623	11.5580 \pm 0.0231
	2	2.2076 \pm 0.4415	11.0380 \pm 0.0221
	3	1.6164 \pm 0.3233	8.0820 \pm 0.0162
Manosa	1	0.3384 \pm 0.0677	1.6920 \pm 0.0033
	2	0.3660 \pm 0.0732	1.8300 \pm 0.0036
	3	0.3276 \pm 0.0655	1.6380 \pm 0.0033

Elaboración propia

Cuadro 19 Valores promedio de porcentaje(%) de humedad y porcentaje de celulosa bacteriana en la CB húmeda según la fuente de carbono

Fuente de carbono	Réplica	% de humedad	Promedio % de humedad	Promedio % de celulosa bacteriana
Cáscara de piña	1	96.3729	95.4975	4.5025
	2	93.0983		
	3	97.0215		
Cáscara de papaya	1	70.4490	71.7046	28.2954
	2	66.9415		
	3	77.7233		
Limón exprimido	1	94.8784	95.5074	4.4926
	2	97.4600		
	3	94.1839		
Maltosa	1	81.2394	82.6512	17.3488
	2	84.5207		
	3	82.1935		
Manosa	1	96.5510	96.5206	3.4794
	2	96.5653		
	3	96.4455		

Elaboración propia