



**Obtención y caracterización de celulosa microbiana de Kombucha (*Medusomyces gisevi*) desarrollados a partir de té negro (*Camellia sinensis*) y Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), considerando distintas concentraciones de sacarosa, y su aplicación en la elaboración de productos biodegradables.**

Valdiviezo Andino, Nelson Efraín

Departamento de Ciencias de la Vida

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniero en  
Biotecnología

Sánchez Llaguno, Sungey Naynee, PhD.

12 de marzo del 2024

# Reporte de verificación de contenido



IC\_VALDIVIEZO\_NELSON.pdf

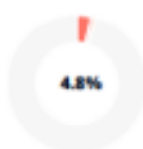
## Scan details

Scan time:  
March 21th, 2024 at 13:1 UTC

Total Pages:  
95

Total Words:  
23583

## Plagiarism Detection



Types of plagiarism		Words
Identical	3.3%	772
Minor Changes	0.9%	214
Paraphrased	0.6%	150
Omitted Words	0%	0

## AI Content Detection



Text coverage  
AI text  
Human text

## Plagiarism Results: (96)

Development and evaluation of ciprofloxacin-bacterial cellulose composi... 0.1%

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc9171441/>

Back to Top Skip to main content An official websi...

WO2018106099A1 - Método para la producción de membranas de celulosa ... 0.1%

<https://patents.google.com/patent/wo2018106099a1/es>

WO2018106099A1 - Método para la producción de membranas de celulosa bacteriana, útil en aplicaciones bi...

Firma:



Ing. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee, PhD.

C.C.: 1205348673

Director del Proyecto de Investigación



**Departamento de Ciencias de la Vida**  
**Carrera de Ingeniería en Biotecnología**

### **Certificación**

Certifico que el trabajo de integración curricular: **“Obtención y caracterización de celulosa microbiana de Kombucha (*Medusomyces gisevi*) desarrollados a partir de té negro (*Camellia sinensis*) y Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*), considerando distintas concentraciones de sacarosa, y su aplicación en la elaboración de productos biodegradables.”** fue realizado por **Valdiviezo Andino Nelson Efrain** el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizada en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

**Santo Domingo, 12 de marzo 2024**

Firma:



**Ing. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee, PhD.**  
**C.C.: 1205348673**  
**Director del Proyecto de Investigación**



**Departamento de Ciencias de la Vida  
Carrera de Ingeniería en Biotecnología**

**Responsabilidad de Autoría**

Yo, **Valdiviezo Andino Nelson Efrain**, con cédula de ciudadanía n° 1718967720, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **Obtención y caracterización de celulosa microbiana de Kombucha (*Medusomyces gisevi*) desarrollados a partir de té negro (*Camellia sinensis*) y Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*), considerando distintas concentraciones de sacarosa, y su aplicación en la elaboración de productos biodegradables.** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

**Santo Domingo, 12 de marzo 2024**

Firma

**Valdiviezo Andino Nelson Efrain**

C.C.: 1718967720



**Departamento de Ciencias de la Vida  
Carrera de ingeniería en Biotecnología  
Autorización de Publicación**

Yo/ nosotros **Valdiviezo Andino Nelson Efrain**, con cédula de ciudadanía n° 1718967720, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **Obtención y caracterización de celulosa microbiana de Kombucha (*Medusomyces gisevi*) desarrollados a partir de té negro (*Camellia sinensis*) y Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*), considerando distintas concentraciones de sacarosa, y su aplicación en la elaboración de productos biodegradables.** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi/nuestra responsabilidad.

**Santo Domingo, 12 de marzo 2024**

Firma

.....  
**Valdiviezo Andino Nelson Efrain**

C.C.: 1718967720

## Índice de Contenido

Dedicatoria .....	I
Agradecimiento .....	II
Resumen .....	3
Abstract .....	4
Capítulo I.....	5
Introducción .....	5
Objetivos .....	7
<i>Objetivo general</i> .....	7
Hipótesis.....	7
Diseño AB de formación de celulosa.....	7
Hipótesis para el Factor A (Té) .....	7
Hipótesis para el Factor B (concentración de sacarosa) .....	7
Hipótesis para el Factor AB (Interacción).....	8
Revisión de literatura .....	8
Estado de arte .....	8
Antecedentes nacionales .....	11
Bebidas fermentadas .....	13
Kombucha.....	13
Fuentes de sustrato .....	18
Té negro.....	18
Flor de Jamaica .....	21
Celulosa bacteriana .....	26
Estructura, composición y propiedades de la celulosa microbiana.....	26
Producción de celulosa a partir de fermentaciones.....	28
Aplicaciones actuales de la celulosa bacteriana .....	30
Productos biodegradables .....	32
Aplicaciones de la celulosa bacteriana en productos biodegradables.....	33
Investigaciones en la fabricación de biomateriales .....	34
Perspectivas del uso de la celulosa de kombucha.....	35
Capítulo II.....	37
Metodología .....	37
Ubicación del área de investigación .....	37
Ubicación política .....	37
Ubicación ecológica.....	37

Ubicación geográfica .....	37
Materiales .....	38
Métodos .....	41
Aislamiento el microbiota natural de las muestras Kombucha .....	41
Identificación por microscopia .....	41
Preparación de los dos tipos de kombucha a partir de té negro y té de Flor de Jamaica, a diferentes concentraciones de sacarosa para el crecimiento de los inóculos. ....	42
Análisis de la cinética de crecimiento microbiano y rendimiento de producción de celulosa de la microbiota de kombucha .....	42
Purificación de la celulosa cosechada .....	43
Análisis fisicoquímicos las características de la celulosa obtenida.....	43
Elaboración de bioplástico .....	44
Diseño estadístico .....	46
Coeficiente de variación .....	46
Tipo de diseño experimental .....	46
Variables dependientes del ANOVA .....	47
Capítulo III.....	49
Resultados .....	49
Identificación microbiana.....	49
Análisis de la cinética de crecimiento microbiano .....	50
Análisis factorial de la producción de celulosa .....	55
Resultados de análisis de varianza para las variables dependientes fisicoquímicas.....	55
Resultados de análisis de varianza para la variable dependiente: pH.....	57
Resultados de la influencia del tipo de té (Factor A) sobre las características fisicoquímicas .....	58
Resultados de la influencia del porcentaje de sacarosa (Factor B) sobre las características fisicoquímicas.....	60
Resultados de la influencia del tipo y la interacción con el porcentaje de sacarosa sobre las características fisicoquímicas .....	62
Proceso fermentativo de la Kombucha.....	66
Características físicas de la celulosa.....	73
Características del bioplástico y papel .....	74
Capítulo IV .....	77
Conclusiones.....	77
Recomendaciones .....	81
Capítulo V .....	83
Bibliografía .....	83

## Lista de figuras

<b>Figura 1</b> Metabolismo microbiano en la fermentación de kombucha .....	17
<b>Figura 2</b> Principales componentes de la kombucha .....	18
<b>Figura 3</b> Enlaces de hidrógeno inter e intra en la celulosa bacteriana.....	27
<b>Figura 4</b> Mapa de ubicación geográfica del área de investigación.....	38
<b>Figura 5</b> Tinción de Gram en muestras de Kombucha .....	50
<b>Figura 6</b> Resultados de absorbancia de la kombucha de té negro .....	50
<b>Figura 7</b> Resultados de absorbancia de la kombucha de té de Jamaica .....	51
<b>Figura 8</b> Cinética de crecimiento microbiano en la kombucha de té negro.....	53
<b>Figura 9</b> Cinética de crecimiento microbiano en la kombucha de té de Jamaica .....	54
<b>Figura 10</b> Diagramas de dispersión para la variable pH a distintas concentraciones de sacarosa.....	66
<b>Figura 11</b> Diagramas de dispersión para la variable grados Brix a distintas concentraciones de sacarosa.....	69
<b>Figura 12</b> Diagramas de dispersión para la variable Peso del biofilm a distintas concentraciones de sacarosa.....	72



## Lista de Tablas

<b>Tabla 1</b> Microorganismos que se encuentran en la kombucha.....	14
<b>Tabla 2</b> Información taxonómica del Té.....	20
<b>Tabla 3</b> Información taxonómica de la Flor de Jamaica.....	22
<b>Tabla 4</b> Características físicas de la Flor de Jamaica .....	24
<b>Tabla 5</b> Materiales para el aislamiento del microbiota de Kombucha.....	38
<b>Tabla 6</b> Materiales para la preparación de kombucha .....	38
<b>Tabla 7</b> Determinación de los parámetros de crecimiento microbiano .....	39
<b>Tabla 8</b> Análisis microbiológico de las colonias.....	39
<b>Tabla 9</b> Análisis físicos y purificación de la celulosa obtenida.....	40
<b>Tabla 10</b> Análisis físicos de los productos biodegradables.....	40
<b>Tabla 11</b> Análisis de varianza para la obtención de celulosa .....	47
<b>Tabla 12</b> Factores y niveles de la producción de celulosa.....	47
<b>Tabla 13</b> Tratamientos del diseño para la producción de celulosa .....	48
<b>Tabla 14</b> Variables para medir la producción de celulosa.....	48
<b>Tabla 15</b> Análisis de varianza para % humedad .....	56
<b>Tabla 16</b> Análisis de varianza para pH .....	57
<b>Tabla 17</b> Variable dependiente grados brix°.....	58
<b>Tabla 18</b> Características Físico Químicas de la bebida de Kombucha según diferentes autores. ....	65
<b>Tabla 19</b> Características físicas de la celulosa obtenida .....	74
<b>Tabla 20</b> Análisis del bioplástico y papel obtenido de la kombucha considerando el tipo de té .....	75

## **Lista de abreviaturas**

**BAL** Bacterias del ácido láctico

**BAA** Bacterias del ácido actico

**UFC** Unidades formadoras de colonias

**INEN** El Instituto Ecuatoriano de Normalización

**NTE** Norma Técnica Ecuatoriana

**SCOBY** Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast

**CB** Celulosa bacteria

## **Dedicatoria**

Dedico este trabajo en primer lugar a Dios por mantenerme siempre fuerte para levantarme en toda caída y mantenerme con salud.

A mi amada esposa Marcela, por su inquebrantable apoyo, paciencia y amor incondicional a lo largo de este arduo camino académico.

A mis queridos hijos, Bryana, Nicolas y Emilio quienes han sido mi inspiración y motor para seguir adelante en cada etapa de este proyecto.

A mi madre, Zulay Andino, y suegra Rocío Bonilla por su constante aliento, sacrificio y ejemplo de perseverancia en la búsqueda del conocimiento.

A mis hermanos, familiares y amigos, por su compañía, ánimo y comprensión en los momentos de duda y cansancio.

A todos mis respetados profesores, que han formado parte en todo mi proceso formativo, quienes con su sabiduría y guía han contribuido significativamente a mi formación académica y profesional.

### **Agradecimiento**

A Dios, fuente de sabiduría y guía en cada paso de mi vida, por iluminar mi camino y darme la fortaleza para alcanzar este logro académico.

A mi amada esposa, Marcela Alvarez, por su amor incondicional, comprensión y apoyo inquebrantable en cada desafío y triunfo de este camino académico.

A mis queridos hijos, Emilio, Nicolas y Bryana Valdiviezo por ser mi mayor motivación y alegría, y por comprender mis ausencias y dedicación a este proyecto.

A mi familia, por su apoyo incondicional, por ser mi refugio en los momentos difíciles y por celebrar conmigo cada logro alcanzado.

A mis respetados profesores, de la ESPE sede Santo Domingo, por su dedicación, conocimiento y orientación académica, que han sido fundamentales en mi formación y crecimiento profesional.

## Resumen

La kombucha es una bebida fermentada a partir de té azucarado y una película de celulosa conocida como SCOBY, la celulosa obtenida de la kombucha ha sido explorada como biomaterial para el desarrollo de productos biodegradables. El presente estudio tuvo como objetivo obtener y caracterizar la celulosa microbiana de kombucha (*Medusomyces gisevi*) a partir de té negro (*Camellia sinensis*) y Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), considerando diferentes concentraciones de sacarosa, y evaluar su aplicación en la elaboración de productos biodegradables. Se empleó un diseño factorial con dos factores: tipo de té (té negro y Flor de Jamaica) y concentración de sacarosa (10%, 15% y 20%). Se realizaron tres réplicas en muestras de celulosa obtenidas después de 30 días de fermentación. Se midieron parámetros como humedad, pH, grados Brix y características físicas del bioplástico y papel. Los resultados mostraron que el té de Jamaica presentó una población microbiana inicial ( $3,12E+06$  UFC/ml) superior al té negro ( $4,24E+05$  UFC/ml). Al finalizar la fermentación, el té de Jamaica mantuvo una población más alta ( $6,39E+06$  UFC/ml) en comparación con el té negro ( $5,56E+05$  UFC/ml). Se aislaron e identificaron bacterias ácido-lácticas del género *Gluconobacter* y levaduras mediante tinción de Gram y análisis morfológico. Durante el proceso fermentativo, el pH final no bajó de 2,5 para ambos tipos de té. El consumo de sacarosa estuvo entre 1,7 y 2,23 g. El té de Jamaica al 20% de sacarosa presentó la mayor producción de celulosa con 20,88 g. En cuanto a las propiedades físicas, los valores de densidad y dureza obtenidos para los bioplásticos y papeles se encontraron dentro de los rangos típicos y cumplen con los estándares mínimos aplicables. Sin embargo, se deben considerar otras propiedades relevantes, como la resistencia mecánica, permeabilidad, biodegradabilidad y estabilidad térmica, según los requisitos de la aplicación prevista. Los resultados obtenidos sugieren que la celulosa microbiana de kombucha, producida a partir de té negro y Flor de Jamaica, presenta características prometedoras para su uso en la elaboración de productos biodegradables.

Palabras clave: Kombucha, Jamaica, sacarosa, celulosa, bioplástico

### Abstract

The present study aimed to obtain and characterize microbial cellulose from kombucha (*Medusomyces gisevi*) using Black Tea (*Camellia sinensis*) and Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) considering different sucrose concentrations and evaluate its application in the production of biodegradable products. A factorial design with two factors was employed: type of tea (black tea and Roselle) and sucrose concentration (10%, 15%, and 20%). Three replicates were conducted on cellulose samples obtained after 30 days of fermentation. Parameters such as moisture content, pH, Brix degrees, and physical characteristics of bioplastic and paper were measured. Results showed that Roselle tea exhibited a higher initial microbial population ( $3.12 \times 10^6$  CFU/ml) compared to black tea ( $4.24 \times 10^5$  CFU/ml). At the end of fermentation, Roselle tea maintained a higher population ( $6.39 \times 10^6$  CFU/ml) compared to black tea ( $5.56 \times 10^5$  CFU/ml). Lactic acid bacteria of the *Gluconobacter* genus and yeast were isolated and identified through Gram staining and morphological analysis. Throughout the fermentation process, the final pH did not drop below 2.5 for both tea types. Sucrose consumption ranged between 1.7 and 2.23 g. Roselle tea with 20% sucrose exhibited the highest cellulose production at 20.88 g. Regarding physical properties, density and hardness values obtained for bioplastics and papers were within typical ranges and met applicable minimum standards. However, other relevant properties such as mechanical strength, permeability, biodegradability, and thermal stability need consideration based on intended applications. The results suggest that microbial cellulose from kombucha, produced using Black Tea and Roselle, holds promising characteristics for use in the production of biodegradable products.

Keywords: Kombucha, Jamaica, sucrose, cellulose, bioplastic

## Capítulo I

### Introducción

El presente trabajo tiene como objetivo la obtención y caracterización de la celulosa bacteriana producida durante la fermentación de la kombucha (SCOBY) de dos tipos de té a distintas concentraciones de sacarosa para la elaboración de bioproductos como el papel y el bioplástico.

El término “alimentos fermentados” hace referencia a un conjunto de alimentos que sufren diversas formas de descomposición química inducida por microorganismos probióticos (Paul et al., 2023). Como tal, los alimentos fermentados han constituido una parte fundamental de la dieta humana durante siglos, pues, a diferencia de las materias primas frescas, estos tienen una vida útil más larga. A su vez, contienen nutrientes con un gran potencial para mantener la salud y prevenir enfermedades, no obstante, sufren cambios en el sabor, la textura, disminución de la toxicidad y del tiempo de cocción (Soemarie et al., 2021).

Su preparación y consumo está arraigado en prácticas culturales antiguas como una forma de conservación natural, primitiva pero eficaz. El uso de cultivos iniciadores, como las bacterias ácido-lácticas (BAL), induce cambios bioquímicos importantes en los alimentos, convirtiendo las materias primas en productos que son tanto nutritivos como deliciosos (Paul, y otros, 2023).

Al usar cultivos iniciadores como las bacterias ácido-lácticas (BAL), los alimentos experimentan cambios bioquímicos significativos, transformando las materias primas en productos nutritivos y sabrosos. La kombucha se ha vuelto una de las bebidas populares en los últimos años, tiene su origen en China donde se utilizaba té negro o verde como sustrato (Abaci et al., 2022). Se prepara comúnmente con una infusión de té azucarado que se fermenta a temperatura ambiente durante varios días usando una película de celulosa, también llamada hongo del té o SCOBY, conformada por bacterias y levaduras. Su

consumo se ha informado con varios beneficios potenciales para la salud y propiedades sensoriales atractivas (Wang et al., 2022).

Alrededor del mundo, la kombucha se produce tanto en los hogares, de forma artesanal en pequeñas empresas, así como a gran escala comercial, la mayoría de las empresas involucradas en la producción y distribución de kombucha están ubicadas en América del Norte dominando el mercado global con una participación del 52%, el valor de su mercado presenta un rápido crecimiento siendo que en 2019 fue de 1670 millones de dólares mientras que en 2020 fue de 2 200 millones de dólares, con un pronóstico de crecimiento anual de 20% por año (Antolak et al., 2021).

El número de publicaciones sobre la producción de kombucha y sus actividades biológicas aumenta cada año, en particular (Antolak et al., 2021) realizaron un análisis de datos bibliográficos donde distinguieron distintas áreas de investigación que incluían la evaluación de procesos de fermentación, estudios sobre celulosa bacteria, análisis microbiológicos de kombucha, así como aplicaciones de SCOBY en otros productos alimenticios.

Lo que nos lleva al objetivo de la actual investigación. Trabajos como el de Jiménez Sánchez, (2021) usaron la celulosa obtenida de la kombucha como biomaterial para el desarrollo de productos de calzado, carteras y bisutería, una alternativa más ecológica. Por otro lado, Ramírez Tapias y otros, (2021) caracterizaron las películas de kombucha para la producción de envases alternativos en la industria alimentaria. Mientras que Arbeláez Mejía y Sánchez Gallego, (2023) investigaron el uso de la celulosa microbiana en la fabricación de apósitos con liberación de extractos fitoquímicos para la cicatrización de heridas, lo que implicaría un gran desarrollo en la industria médica.

Naturalmente, el uso potencial de la celulosa obtenida a partir de la kombucha presenta medios alternativos para la fabricación de nuevos materiales más ecológicos y sustentables, de origen orgánico, que sin duda requiere una optimización y diversos estudios para llevar su producción y preparación a gran escala.



## **Objetivos**

### ***Objetivo general***

Obtener y caracterizar celulosa microbiana de Kombucha (*Medusomyces gisevi*) desarrollados a partir de té negro (*Camellia sinensis*) y Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), considerando distintas concentraciones de sacarosa, y su aplicación en la elaboración de productos biodegradables.

### ***Objetivos específicos***

Aislar e identificar el microbiota natural de las muestras Kombucha (*Medusomyces gisevi*) desarrollados a partir de té negro (*Camellia sinensis*) y té de Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Preparar los dos tipos de té negro (*Camellia sinensis*) y té de Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), a diferentes concentraciones de sacarosa para el crecimiento de los inóculos.

Determinar mediante análisis físicos las características de la celulosa obtenida.

Elaborar productos biodegradables a partir de celulosa microbiana de Kombucha: Papel y bioplástico.

## **Hipótesis**

### **Diseño AB de formación de celulosa**

#### **Hipótesis para el Factor A (Té)**

**Ho:** Los tipos de té como medio no influyen en la cantidad de celulosa producida en la fermentación.

**Ha:** Los tipos de té como medio influyen en la cantidad de celulosa producida en la fermentación.

#### **Hipótesis para el Factor B (concentración de sacarosa)**

**Ho:** La concentración de sacarosa como sustrato no influye en la cantidad de celulosa producida en la fermentación.

**Ha:** La concentración de sacarosa como sustrato influye en la cantidad de celulosa producida en la fermentación.

### **Hipótesis para el Factor AB (Interacción)**

**Ho:** La interacción entre el tipo de té y la concentración de sacarosa no influyen en la cantidad de celulosa obtenida.

**Ha:** La interacción entre el tipo de té, la concentración de sacarosa y los tiempos de fermentación influye en la cantidad de celulosa obtenida.

## **Revisión de literatura**

### **Estado de arte**

Los antecedentes de investigación sobre la obtención y caracterización de celulosa microbiana de Kombucha (*Medusomyces gisevi*) desarrollada a partir de té negro (*Camellia sinensis*) y Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*), considerando distintas concentraciones de sacarosa, y su aplicación en la elaboración de productos biodegradables, se basan en la evolución de la obtención de celulosa a lo largo de las décadas.

En un principio, la obtención de celulosa era un proceso empírico orientado a la producción de polímeros estructurales a partir de plantas, cuya demanda creció exponencialmente con el tiempo (Billmeyer, 2015). La creciente preocupación por el efecto invernadero, la contaminación ambiental y la escasez de recursos económicos y demográficos llevó a la búsqueda de alternativas a los plásticos convencionales, siendo la celulosa sintética una opción inicial (Saizar, 2010). Sin embargo, la fabricación de plásticos a partir de celulosa sintética presentó desafíos como altos costos, disponibilidad limitada y problemas medioambientales debido al uso de sustancias químicas. Esto impulsó la investigación hacia la búsqueda de nuevos materiales más eficaces y respetuosos con el medio ambiente (Orellana, 2015).

En 1953, los doctores Hestrim y Schramm realizaron investigaciones pioneras sobre la obtención de celulosa a partir de la bacteria *Acetobacter Xylinum*, estableciendo principios que se apoyaban en estudios previos (Hestrim y Schramm, 1954). A lo largo del

tiempo, se buscaron mejorar los rendimientos de producción ajustando proporciones de sustrato y nutrientes, incluyendo propuestas como el uso de sacarosa por y combinaciones de glucosa, sacarosa, licor de maíz y compuestos sulfatados (Zhou, 2007).

La celulosa microbiana es un polímero natural producido por diversas bacterias, incluyendo especies del género *Gluconacetobacter*, que forman parte del cultivo simbiótico de Kombucha. Durante el proceso de fermentación, estas bacterias utilizan azúcares presentes en el medio de cultivo para sintetizar una red de fibras de celulosa conocida como "película" o "nata" de Kombucha (Jayabalan et al., 2007).

Varios estudios han demostrado que la concentración y el tipo de azúcar presente en el medio de cultivo influyen en la producción y las propiedades de la celulosa microbiana. La sacarosa es comúnmente utilizada como fuente de carbono debido a su disponibilidad y bajo costo (Banurea et al., 2016). Sin embargo, se han explorado otras fuentes como la fructosa, la glucosa y la maltosa (Keshk, 2014).

La investigación se centró en la evaluación de sustratos de carbono y nutrientes específicos de una sola fuente, destacando la bebida de Kombucha creada a partir del té negro como un medio de cultivo óptimo según Illana (2007), debido a la presencia de sustratos adecuados y alcaloides, como la teína, que favorecen el desarrollo de la membrana de celulosa durante la incubación.

El uso del té negro y la Flor de Jamaica son fuentes de compuestos bioactivos, como polifenoles y antioxidantes, que pueden influir en el metabolismo de las bacterias productoras de celulosa microbiana y, en consecuencia, en las propiedades finales de la celulosa obtenida (Villarreal Soto et al., 2018). Además, estos ingredientes pueden aportar color y propiedades adicionales a los materiales elaborados con esta celulosa.

La caracterización de la celulosa producida por la Kombucha presenta características únicas, como una alta cristalinidad, una elevada pureza y una estructura de red altamente porosa. Estas propiedades la convierten en un material prometedor para diversas aplicaciones, incluyendo la fabricación de películas y recubrimientos

biodegradables, membranas para filtración y liberación controlada de fármacos, entre otras (Esa et al., 2014).

En cuanto a los beneficios del líquido de kombucha en la salud en un estudio piloto, se exploraron los posibles efectos anti-hiperglucémicos de la kombucha en adultos con diabetes tipo II. Con la participación de 12 individuos, el ensayo se desarrolló de manera prospectiva y aleatoria en un hospital urbano, empleando un diseño cruzado y doble ciego. Durante cuatro semanas, los participantes consumieron 240 mL diarios de un producto de kombucha o un placebo, seguido de un periodo de lavado de 8 semanas antes de cambiar al producto alternativo. La medición de los niveles de glucosa en sangre en ayunas se realizó a intervalos específicos, y aspectos secundarios de la salud se evaluaron mediante cuestionarios. Los resultados indicaron que el kombucha mostró una reducción significativa en los niveles promedio de glucosa en sangre, comparado con el placebo.

El análisis microbiológico del kombucha reveló una predominancia de bacterias de ácido láctico, ácido acético y levaduras, con aproximadamente  $10^6$  unidades formadoras de colonias (UFC)/mL. Aunque limitado por el tamaño de la muestra, este estudio sugiere una asociación prometedora entre el consumo de kombucha y la reducción de los niveles de glucosa en sangre en individuos con diabetes, destacando la necesidad de investigaciones más amplias (Mendelson et al., 2023).

Otro estudio previo se enfocó en la síntesis de membranas de celulosa bacteriana a través de la fermentación líquida utilizando la cepa Kombucha en té negro (*Camellia sinensis*) a distintas concentraciones de sacarosa. La investigación se centró en analizar las propiedades estructurales de la celulosa bacteriana Kombucha, específicamente el índice de orden lateral (LOI), el índice total de cristalinidad (TCI), la intensidad de los enlaces de hidrógeno (HBI) y la fracción ( $f\alpha$ ).

La evaluación de estas propiedades se llevó a cabo mediante espectroscopia FTIR, utilizando diversas bandas de absorción del espectro vibracional. Se observó que la presencia de sacarosa en el proceso de fermentación afecta significativamente las características de la celulosa bacteriana, promoviendo la cristalización de la sacarosa en la

estructura, lo que se reflejó en un aumento del índice total de cristalinidad, el índice de orden lateral y la fracción ( $f_a$ ). Al mismo tiempo, se registró una disminución en el índice de enlaces de hidrógeno.

Adicionalmente, se exploró el efecto de la adición de cacao orgánico (*Theobroma cacao*) al medio de cultivo antes de la fermentación. Los resultados indicaron que esta adición produjo membranas con propiedades muy similares a las preparadas únicamente con té negro. Se sugiere que la obtención de celulosa tipo I y la cristalización controlada durante este proceso podrían ser beneficiosas para desarrollar membranas de alta cristalinidad, particularmente para aplicaciones biomédicas y bioelectrónicas (Huerta y otros, 2022).

### **Antecedentes nacionales**

Jiménez et al., (2023) en el contexto de esta investigación, se llevó a cabo la obtención de celulosa bacteriana mediante la inoculación del hongo *Gluconacetobacter xylinus*, presente en la bebida Kombucha, utilizando un método de cultivo estático. La novedad consistió en la sustitución del té negro convencional por una infusión de cáscara de café. Se realizaron pruebas con dos concentraciones de azúcar (20% y 10%) y se exploraron cinco tratamientos que consistieron en la sustitución de diferentes porcentajes (0%, 25%, 50%, 75% y 100%) del té por la infusión de cáscaras de café. Los reactores rectangulares utilizados tenían una capacidad de 1,5 litros y se mantuvieron a temperatura ambiente durante un período de 15 días hasta la cosecha de la celulosa.

Tanto el líquido fermentado como la membrana resultante fueron sometidos a evaluaciones exhaustivas en cuanto a propiedades físicas, químicas, mecánicas y funcionales. Los datos obtenidos fueron analizados mediante un análisis de varianza. Los resultados señalan que la producción máxima de celulosa se logró con una concentración del 10% de azúcar y una sustitución del 75% de la infusión de cáscaras de café. Este tratamiento exhibió un rendimiento quincenal del 25% en la producción de celulosa,

destacando por sus propiedades superiores de dureza y estructura firme en comparación con los demás tratamientos evaluados (Jiménez et al., 2023).

En Ecuador, específicamente en la Universidad de Guayaquil, se han realizado investigaciones enfocadas en la producción y caracterización de biopolímeros a partir de residuos agroindustriales. En este caso particular, se utilizaron los residuos generados por la industria del cacao, variedad CCN-51, como materia prima para la obtención de un biopolímero de celulosa bacteriana.

El estudio evaluó el uso de los excedentes de cacao como única fuente de carbono en el medio de producción, así como el efecto de la adición de sorbitol y glicerol en diferentes proporciones. Esto con el fin de determinar las condiciones óptimas para la producción del biopolímero mediante la fermentación con un aislado nativo de la bacteria *Gluconobacter xylinus*.

Una vez obtenido el biopolímero, se realizó una caracterización exhaustiva mediante diversas técnicas analíticas, tales como microscopía electrónica de barrido (SEM), calorimetría diferencial de barrido (DSC), espectroscopia infrarroja (FTIR), pruebas de tracción, medición de humedad, evaluación de color y dimensionamiento de las membranas. Los resultados obtenidos demostraron que el biopolímero producido presentaba características similares a las fibras de celulosa bacteriana, con una temperatura de degradación superior a 190 °C y grupos funcionales característicos de la celulosa, según los análisis de DSC y FTIR, respectivamente.

Además, se evaluó el rendimiento de producción en base al medio de cultivo (RVP) y a la fuente de carbono (RFC), obteniendo los mejores resultados con la formulación que incluía sorbitol (F2), con valores de 10,43 g/L y 21,29 g/Kg, respectivamente. Mediante un análisis estadístico ANOVA, se determinó que las variables evaluadas (formulaciones F1, F2 y F3) no presentaban diferencias significativas en cuanto a la producción del biopolímero (Sornoza et al., 2021)

## **Bebidas fermentadas**

### ***Kombucha***

#### **Origen de la Kombucha.**

Se considera que el té fermentado fue empleado inicialmente en el este de Asia debido a sus propiedades terapéuticas alrededor del año 220 a.C. No obstante, su origen se encuentra en el noreste de China (Manchuria), donde durante la dinastía Tsin (Ling Chi) fue adoptado por sus efectos desintoxicantes y propiedades energizantes (Jayabalan et al., 2016 como se citó en (Dantas Coelho et al., 2020))

En el año 414 d.C., un médico llamado Kombu introdujo el té en Japón, utilizando esta bebida para tratar los problemas digestivos del emperador Inkyo. De ahí surge el término "Kombucha" o "té de Kombu" (Santos, 2016 como se citó en (Dantas Coelho et al., 2020)).

#### **Proceso de obtención de Kombucha.**

La elaboración tradicional de la kombucha implica el uso de té negro o té verde. Las proporciones de té y azúcar, así como los tiempos y temperaturas de fermentación, pueden variar según la región o las preferencias individuales del consumidor (Dantas Coelho et al., 2020).

En términos generales, el proceso de producción de kombucha implica la preparación de una base de té a la que se añade azúcar, que actúa como sustrato para las bacterias y levaduras responsables de la fermentación del té (Dantas Coelho et al., 2020).

#### **Cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (SCOBY).**

El cultivo de kombucha, también conocido como Cultivo Simbiótico (Tabla 1) de Bacterias y Levaduras (SCOBY), representa una biopelícula que se forma a través de la asociación simbiótica entre levaduras y bacterias acéticas. Comúnmente denominado "té de hongos", esta biopelícula exhibe una apariencia similar a una alfombra de hongos cuando

se cultiva en condiciones estáticas. Este proceso implica el cultivo de la biopelícula en té endulzado y enfriado, dando como resultado la formación de una película celulósica (Dantas Coelho et al., 2020).

**Tabla 1** *Microorganismos que se encuentran en la kombucha*

<b>Bacteria</b>	<b>Función en la Kombucha</b>
Acetobacter, Gluconobacter, Gluconacetobacter, Komagataeibacter	Productoras de ácido acético y glucónico, formación de biopelícula celulósica (hongo del té)
Bacterium gluconicum, Acetobacter aceti, Acetobacter pasteurianus, Glucobacter oxigendans, Acetobacter musti, Gluconobacter potus Komagataeibacter kombuchae, Komagataeibacter saccharivorans, Komagataeibacter rhaeticus, Gluconacetobacter sacchari, Gluconacetobacter sp. A4	Bacterias ácido-acéticas adicionales
Acetobacter nitrogenifigens, Gluconacetobacter kombucahe	Bacterias fijadoras de nitrógeno aisladas de Kombucha
<b>Bacteria de ácido láctico</b>	<b>Función en la Kombucha</b>
Lactobacillus, Bifidobacterium	Presentes en la Kombucha, mejora propiedades antioxidantes y antimicrobianas
<i>Lacticaseibacillus casei</i> , <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	Cepas específicas que mejoran las actividades antioxidantes y antimicrobianas



Levadura	Características generales
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Utilizada en panadería, elaboración de cerveza y vino, producción de dióxido de carbono y energía en presencia de oxígeno
Candida, Debaryomuces, Kluyveromyces, Yarrowia, Zygosaccharomyces	Levaduras no <i>Saccharomyces</i> con posibles aplicaciones comerciales
Varias especies de levaduras	Pueden variar según la región y condiciones ambientales

*Nota.* Tomado de (Dantas Coelho et al., 2020).

El metabolismo de los microorganismos durante la fermentación de la kombucha es complejo y aún no ha sido completamente elucidado debido a la participación de numerosos microorganismos y las interacciones que ocurren entre ellos. A pesar de que las bacterias y levaduras acéticas, como *Saccharomyces cerevisiae*, ya tienen roles bien definidos en la fermentación, las funciones e interacciones que muchos microorganismos desempeñan en la fermentación de la kombucha aún son desconocidas (Villarreal Soto et al., 2018).

Se sabe que, al principio del proceso, las levaduras hidrolizan la sacarosa en glucosa y fructosa mediante la invertasa, produciendo etanol a través de la glucólisis. Algunas levaduras, como las del género *Saccharomyces*, muestran preferencia por la glucosa, mientras que levaduras específicas del género *Zygosaccharomyces* prefieren la fructosa (Jayabalan et al., 2014).

Por otro lado, las bacterias acéticas utilizan la glucosa para producir ácido glucónico y el etanol para generar ácido acético (Jayabalan et al., 2014). La presencia de este ácido estimula a las levaduras a producir etanol, el cual es utilizado por las bacterias acéticas para crecer y generar más ácido acético (Santos, 2016), como se ilustra en la Figura 1.

A su vez, las cepas del género *Acetobacter* producen ácido acético a partir del etanol. Este proceso es llevado a cabo por las enzimas alcohol deshidrogenasa y deshidrogenasa, que ingresan al ciclo de Krebs produciendo agua y dióxido de carbono

(Teyssier & Hamdouche, 2016). El género *Gluconobacter* no puede oxidar el acetato del ciclo de Krebs, ya que no posee las enzimas necesarias para el proceso de oxidación, lo que resulta en un aumento de productos como el gluconato sin medio (Leal et al., 2018).

Una bacteria del género *Gluconacetobacter xylinus* es principalmente responsable de la matriz de celulosa que alberga el microbiota de la kombucha, promoviendo una asociación entre bacterias y levaduras (Dantas Coelho et al., 2020).

Inicialmente, una población de bacterias que sintetiza celulosa en el medio aumenta debido al consumo de oxígeno disuelto en la interfaz aire/medio, permitiendo solo las bacterias en la película de celulosa. A medida que avanza la fermentación, la película se vuelve más gruesa debido a más capas en la superficie, formando una estructura suspendida en el líquido. La síntesis de celulosa termina cuando la película se vuelve lo suficientemente densa como para hundirse en el líquido. Así, los microorganismos quedan atrapados en SCOBY, y las bacterias acéticas permanecen inactivas debido a un suministro de oxígeno insuficiente (Villarreal Soto et al., 2018).

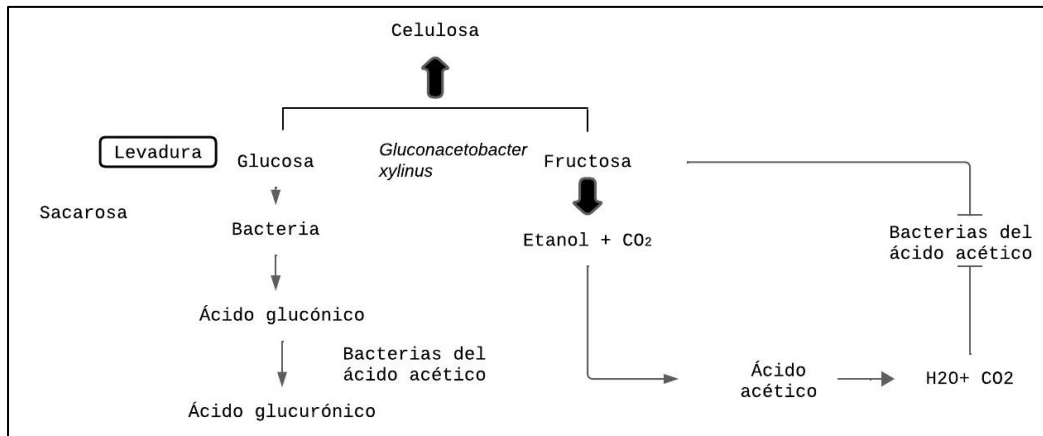
Por otro lado, la presencia de SCOBY disminuye el suministro de oxígeno a las levaduras, que se encuentran en la parte inferior del biofilm, continuando así la fermentación anaeróbica y generando etanol y compuestos aromáticos frutales de gran importancia en el desarrollo del aroma de la kombucha.

Las levaduras apiculadas (*Kloeckera* y *Hanseniaspora*) sintetizan ésteres volátiles y ácidos que proporcionan al sustrato un aroma similar al de la sidra (Dantas Coelho et al., 2020).

Los residuos orgánicos utilizados durante el proceso de fermentación de la kombucha provocan una disminución del pH del té, lo que conduce a una falta de oxígeno debido al aumento de la acidez. De esta manera, se inhibe el crecimiento de posibles bacterias patógenas, permitiendo un consumo seguro (Watawana et al., 2015).

Después de envasar la kombucha, las bacterias acéticas, estrictamente aeróbicas, pierden su actividad dentro del envase y dejan de metabolizar el etanol que continúa siendo producido por las levaduras si aún hay azúcar en la bebida (Dantas Coelho et al., 2020).

**Figura 1** Metabolismo microbiano en la fermentación de kombucha



Nota. Fuente adaptado de Dantas et al., (2010).

### Composición química de la kombucha

La composición química de la kombucha exhibe variabilidad tanto en términos cuantitativos como cualitativos. Esta variabilidad se encuentra influenciada por diversos factores, entre los cuales se incluyen el tiempo de fermentación, los sustratos presentes en el té inicial y los microorganismos presentes en el inóculo. No obstante, se ha corroborado la presencia de componentes como ácidos orgánicos, vitaminas, polifenoles y aminoácidos en esta bebida, en la figura 2, se elucida las principales componentes:

**Figura 2** Principales componentes de la kombucha

Group	Compound	Quantity	Initial Sacrose	Fermentation Time (days)
Organic acids	Acetic acid	5,6 g/L	70 g/L	15
	Acetic acid	8,36 g/L	100 g/L	18
	Acetic acid	11 g/L	100 g/L	30
	Gluconic acid	39 g/L	100 g/L	60
	Gluconic acid	0,0160 g/L	70 g/L	21
Vitamins	Lactic acid	0,18 g/L	100 g/L	18
	Vitamin B <sub>1</sub>	0,74 mg/ mL	70 g/L	15
	Vitamin B <sub>2</sub>	0,08 mg/ mL	70 g/L	10
	Vitamin B <sub>6</sub>	0,52 mg/ mL	70 g/L	15
	Vitamin B <sub>12</sub>	0,84 mg/ mL	70 g/L	15
Others	Vitamin C	0,03 mg/ mL	70 g/L	10
	Ethanol	5,5 g/L	100 g/L	20
	Proteins	3 g/L	100 g/L	12
Minerals	Poliphenols	7,8 mM GAE*	100 g/L	15
	Cu, Fe, Mn, Ni, Zn	0,1 a 0,4 µg/mL	70 g/L	15
Anions	F <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup> , Br <sup>-</sup> , I <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , HPO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	0,04 a 3,20 mg/g	100 g/L	7

Nota. Tomado de (Jayabalan et al., 2007)

## Fuentes de sustrato

### Té negro

*Camellia* es el nombre genérico que rinde homenaje al botánico y misionero jesuita del siglo XVII, Jiří Josef Camel (también conocido como *Camellus*). Este científico llevó plantas de camelias desde Filipinas a Europa, y en reconocimiento a su contribución, Carlos Linneo bautizó este género con su nombre. La planta *Camellia sinensis* es la fuente principal del té, siendo sus hojas y brotes los elementos utilizados en la producción de distintas variedades de té, como el blanco, verde, oolong y negro. Aunque provienen de la

misma especie, cada tipo se procesa de manera diferente para lograr niveles variables de oxidación. Además, el kukicha, conocido como té de ramitas, se obtiene de la misma planta, pero utilizando ramas y tallos en lugar de hojas (Ming, 1992).

La denominación "sinensis" tiene su origen en el latín y significa chino. Antiguamente, la planta del té era conocida con nombres como *Thea bohea*, *Thea sinensis* y *Thea viridis*.

Originaria del sur y sudeste de Asia continental, la *Camellia sinensis* se cultiva actualmente en todo el mundo, especialmente en regiones tropicales y subtropicales. Se presenta como un arbusto o árbol pequeño de hoja perenne que suele podarse a menos de dos metros cuando se cultiva por sus hojas, y cuenta con una raíz pivotante robusta. Sus flores son de tonalidad blanco amarillento, con un diámetro de 2,5 a 4 cm y 7 u 8 pétalos (Ming, 1992).

Las semillas de la *Camellia sinensis* y la *Camellia oleifera* pueden prensarse para obtener aceite de té, utilizado como condimento y aceite de cocina, distinto al aceite del árbol del té, un aceite esencial con fines médicos y cosméticos derivado de otra planta.

Las hojas, que miden entre 4 y 15 cm de largo y de 2 a 5 cm de ancho, contienen alrededor del 4% de cafeína. Las hojas jóvenes, de color verde claro, son preferidas para la producción de té y tienen pelos cortos y blancos en la parte inferior, mientras que las hojas más viejas presentan un verde más intenso. La calidad del té varía según la edad de las hojas y su composición química. Generalmente, se cosechan la punta (brote) y las primeras dos o tres hojas cada una o dos semanas (Ming, 1992).

Los tres tipos principales de té son verde, oolong y negro. El té verde se cuece al vapor poco después de la cosecha para detener la oxidación, mientras que el té oolong se oxida un poco más y es el preferido en muchos restaurantes chinos. Por último, el té negro se oxida durante un periodo más extenso, resultando en un té de tonalidad más oscura (Ming, 1992).

## Taxonomía

**Tabla 2** Información taxonómica del Té

Planta de té	
Follaje de <i>Camellia sinensis</i>	
Reino	Plantae
División	Magnoliophita
Clase	Magnoliopsida
Orden	Ericales
Familia	Teáceas
Género	Camelia
Especie	<i>C. sinensis</i>
Nombre binomial	
<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	

Nota. Fuente tomado de (International Camellia Society, 2024)

## Variedades

*Camellia sinensis* var. *assamica* (J.W.Mast.) Kitam.

*Camellia sinensis* var. *dehungensis* (Hung T.Chang y B.H.Chen) T.L.Ming

*Camellia sinensis* var. *sinensis*

*Camellia sinensis* var. *pubilimba* Hung T.Chang

*Camellia sinensis* var. *waldenae*

## Propiedades bioquímicas

Propiedades Antioxidantes. El té verde contiene polifenoles y flavonoides que actúan como antioxidantes, ayudando a combatir el daño causado por los radicales libres en el cuerpo (Saeed et al.,2017).

Mejora la Salud Cardiovascular. Estudios sugieren que el consumo regular de té verde puede contribuir a la reducción del riesgo de enfermedades cardíacas al disminuir los niveles de colesterol y triglicéridos (Saeed et al.,2017).

Apoyo en la Pérdida de Peso. La presencia de catequinas y la capacidad del té verde para aumentar el metabolismo pueden favorecer la pérdida de peso y la quema de grasas (Vázquez y otros, 2017)

Regulación de la Glucosa en Sangre. Se ha observado que el té verde puede ayudar a controlar los niveles de azúcar en sangre, beneficiando a personas con diabetes tipo 2.

Efectos Antiinflamatorios. Los compuestos bioactivos presentes en el té verde han demostrado tener propiedades antiinflamatorias, lo que puede ser beneficioso para trastornos inflamatorios crónicos (Saeed et al.,2017).

Mejora de la Función Cerebral. La combinación de cafeína y l-teanina en el té verde puede mejorar la función cerebral, aumentando la alerta y la concentración.

Protección contra el Cáncer: Algunos estudios sugieren que los polifenoles del té verde pueden tener propiedades anticancerígenas y ayudar en la prevención de ciertos tipos de cáncer (Liu et al.,2023).

Apoyo al Sistema Inmunológico. Las propiedades antimicrobianas del té verde pueden fortalecer el sistema inmunológico, ayudando a combatir infecciones y enfermedades (Saeed et al.,2017).

Mejora de la Salud Dental. El té verde puede ayudar a prevenir la formación de placa dental y reducir el riesgo de caries gracias a sus propiedades antibacterianas.

Promoción de la Longevidad: Los efectos combinados de los antioxidantes y otros compuestos beneficiosos pueden contribuir a la salud general y a la longevidad (Saeed et al.,2017).

### **Flor de Jamaica**

La planta *Hibiscus sabdariffa* L. (Hs), también conocida como flor de Jamaica, se destaca como un cultivo ideal para países en desarrollo debido a su facilidad de cultivo, su

capacidad para formar parte de sistemas de cultivo múltiple y su utilidad tanto como alimento como fibra. En China, se utilizan las semillas de la planta para obtener aceite, mientras que, en África Occidental, las hojas y semillas en polvo se incorporan en las comidas. Además, la planta tiene aplicaciones en las industrias farmacéutica y alimentaria (Da Costa,2014).

### Taxonomía

**Tabla 3** Información taxonómica de la Flor de Jamaica

Reino	Plantae
División	Magnoliophita
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Dilleniidae
Orden	Malvales
Familia	Malvaceae
Subfamilia	Malvoideae
Género	<i>Hibiscus</i>
Especie	<i>Hibiscus sabdariffa</i> L., 1753

Nota. Tomado de Ramírez, 2020



**Variedades**

*Hibiscus palmatilobus* Baill. (1885)

*Hibiscus cruentus* Bertol.

*Hibiscus fraternus* L.

*Hibiscus acetosus* Noronha

*Hibiscus gossypifolius* Mill.

*Hibiscus sanguineus* Griff. 11

*Hibiscus masuianus* De Wild. & T.Durand (1900)

*Hibiscus cannabinus* Hier

*Sabdariffa rubra* Kostel.9

*Abelmoschus cruentus* (Bertol.) Walp.

*Furcaria sabdariffa* Ulbr.Galería

### Características físicas

**Tabla 4** *Características físicas de la Flor de Jamaica*

Elemento	Descripción
Planta	Es un subarbusto herbáceo anual, erecto y frondoso que puede alcanzar hasta 8 pies (2.4 m) de altura, con tallos suaves o casi suaves, cilíndricos y típicamente rojos.
Hojas	Las hojas son alternas, de 3 a 5 pulgadas (7.5-12.5 cm) de largo, verdes con venas rojizas y pecíolos largos o cortos. Las hojas jóvenes y superiores son simples; las hojas inferiores son profundamente lobuladas de 3 a 5 o incluso 7 lóbulos con márgenes dentados.
Flores	Las flores, ubicadas individualmente en las axilas de las hojas, tienen hasta 5 pulgadas (12.5 cm) de ancho, son de color amarillo o beige con un ojo rosa o granate, y se vuelven rosadas al marchitarse al final del día.
Cáliz	En este momento, el cáliz típicamente rojo, compuesto por 5 sépalos grandes con un collar (epicáliz) de 8 a 12 brácteas delgadas y puntiagudas alrededor de la base, comienza a agrandarse y se vuelve carnosos y jugoso.
Cápsula	La cápsula aterciopelada, de 1/2 a 3/4 pulgadas (1.25-2 cm) de largo, verde cuando es inmadura, se encuentra completamente cerrada dentro del cáliz en este estado. Cuando madura y seca, la cápsula se vuelve marrón y se abre en 5 partes.
Semillas	La cápsula contiene 3 a 4 semillas de forma ovalada y color marrón claro, de 1/8 a 3/16 de pulgada (3-5 mm) de largo y finamente velludas.
Sabor	El cáliz, los tallos y las hojas son ácidos y tienen un sabor que se asemeja de cerca al arándano

*Nota.* Información tomada de León, (1987).

## Propiedades bioquímicas

El té de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) contiene diversos constituyentes bioactivos que son relevantes desde un punto de vista farmacológico. Entre ellos, se destacan principalmente los ácidos orgánicos, antocianinas, polisacáridos y flavonoides (Da Costa, 2014).

**Ácidos Orgánicos:** Los extractos de hibisco contienen un alto porcentaje de ácidos orgánicos, siendo los principales el ácido cítrico, ácido hidroxicítrico, ácido hibiscus, ácido málico y ácido tartárico. También se encuentran en menor proporción ácido oxálico y ácido ascórbico. La distribución porcentual de estos ácidos varía, con el ácido hibiscus representando entre el 13-24%, ácido cítrico entre el 12-20%, ácido málico entre el 2-9%, y ácido tartárico en un 8%, además de un 0.02-0.05% de ácido ascórbico (vitamina C) (Da Costa, 2014).

**Ácido Ascórbico (Vitamina C).** La cantidad de ácido ascórbico en los calices de hibisco varía significativamente entre los calices frescos (6.7–14 mg/100g) y los secos (260–280 mg/100g). Estas diferencias pueden atribuirse a diversas variables como variedades, genética, entorno, ecología y condiciones de cosecha.

**Ácido Hidroxicítrico.** Presente en la forma principal de (2S, 3R)-ácido hidroxicítrico, es el principal ácido orgánico en los calices de hibisco. Su estructura, con un grupo hidroxilo adicional en el segundo carbono del ácido cítrico, lo distingue del más conocido (2S,3S)-ácido hidroxicítrico (HCA) extraído de *Garcinia sp* (Da Costa, 2014).

**Ácido Hibiscus.** Se presenta en la forma de lactona de (+)-allo-ácido hidroxicítrico, compuesto por un fragmento de ácido cítrico con un grupo hidroxilo adicional en el segundo carbono. Posee dos diastereómeros debido a la existencia de dos centros quirales en la molécula (Da Costa, 2014).

**Antocianinas:** Estas son derivados flavonoides y pigmentos naturales presentes en las flores secas de hibisco. Se destacan las antocianinas basadas en delphinidin y cianidina, como delphinidin-3-sambubioside (hibiscin) (Da Costa, 2014).

## **Celulosa bacteriana**

La celulosa bacteriana (CB) es un exopolisacárido de celulosa pura producida por ciertas cepas de bacterias del ácido acético como las del género *Komagataeibacter* (también conocido como *Acetobacter*). Otras bacterias de diversos taxones que son capaces de sintetizar celulosa son: *Agrobacterium*, *Sarcina*, *Rhizobium* y *Gluconoacetobacter* (Volova et al., 2022). Aunque la celulosa sintetizada por estas cepas es molecularmente idéntica a la de las plantas, presenta una mayor cristalinidad y es químicamente pura, ya que carece de lignina, hemicelulosa y otros compuestos biogénicos (Dourado et al., 2017).

### ***Estructura, composición y propiedades de la celulosa microbiana.***

La celulosa es la molécula biológica más común y representa la mayor parte de los biopolímeros en el planeta. Su estructura consiste en cadenas lineales de 2,000 a 14,000 unidades de  $\beta$ -(1,4) glucosa, unidas por enlaces de hidrógeno. No se disuelve en agua y exhibe regiones altamente organizadas (cristalinas), así como otras áreas con menor grado de ordenamiento; debido a sus múltiples formas cristalinas, la celulosa muestra varios polimorfismos, con seis estructuras conocidas. Actualmente exhibe una variedad de aplicaciones dentro de la industria del papel, textil, alimenticia, de explosivos y de azúcares fermentables, entre otras (Carreño et al., 2012).

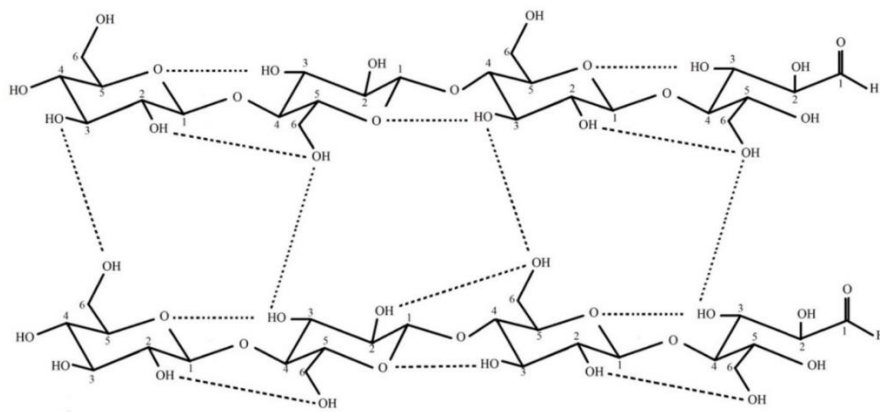
En condiciones de cultivo estático, la CB se manifiesta como una película gelatinosa que comprende una disposición tridimensional de fibras celulósicas puras a nivel nanofibrilar. Estas fibrillas, dispuestas aleatoriamente en forma de cintas, tienen un ancho de menos de 100 nm y están compuestas de nanofibrillas elementales, agrupadas en haces con un tamaño lateral de 7 a 8 nm, y con longitudes de varios micrómetros (Dourado et al., 2017).

La estructura tridimensional de la celulosa, formada como una malla (Figura 3), actúa como una barrera contra el ataque microbiano, principalmente debido a los enlaces glicosídicos  $\beta$  1  $\rightarrow$  4 presentes en el grupo hidroxilo de su superficie libre. Los enlaces de

hidrógeno son abundantes en la celulosa debido a la presencia de múltiples átomos de oxígeno y grupos hidroxilo (Lahiri et al., 2021).

Dentro de la celulosa, se observa un apilamiento paralelo facilitado por la fuerza de van der Waals, lo que conduce al desarrollo de nanofibras cristalinas y, posteriormente, a la formación de la estructura microfibrilar. La presencia de la estructura superespiral contribuye a promover órdenes jerárquicos que otorgan una resistencia mecánica significativa a la celulosa (Lahiri et al., 2021).

**Figura 3** Enlaces de hidrógeno inter e intra en la celulosa bacteriana.



*Nota.* La celulosa posee una estructura tridimensional similar a una malla. Tomado de (Esa et al., 2014)

Entre las pocas especies bacterianas capaces de sintetizar celulosa se encuentra la bacteria Gramnegativa *Acetobacter xylinum*. Esta bacteria puede producir dos tipos de celulosa: celulosa I, similar a una cinta, y celulosa II, que es termodinámicamente estable. Durante la síntesis, las protofibrillas de la cadena de glucosa se secretan a través de la pared celular de las bacterias y se agregan para formar cintas de celulosa de nanofibrillas. Estas cintas construyen una estructura de red en forma de red de celulosa bacteriana con una matriz altamente porosa. La celulosa resultante posee una abundante superficie de grupos hidroxilo, lo que le confiere características de hidrofiliidad, biodegradabilidad y capacidad de modificación química (Esa et al., 2014).

Otra de sus características es la posibilidad de síntesis a partir de diversos sustratos, incluidos los residuos industriales que contienen carbono, posee altas tasas de crecimiento

y productividad de las cepas productoras. Este biopolímero posee una alta capacidad de retención de agua y propiedades mecánicas únicas debido a su estructura molecular porosa, lo que la vuelve permeable a los líquidos, favorable para la adhesión y proliferación celular, así como poseer una alta capacidad de absorber agua hasta un 90% (Volova et al., 2022).

La CB posee una deformabilidad que se asemeja al tejido blando, la tensión de rotura de las películas de CB puede ser de  $2 \times 10^6$  Pa, cuando se encuentra seca también tiene propiedades mecánicas excepcionales debido a su red nanofibrilar cristalina (Volova et al., 2022). La resistencia a la tracción de una fibra de CB es casi comparable a la del Kevlar y el acero, lo que la vuelve prometedor para aplicaciones en campos donde se requieren altas características mecánicas (Yano et al., 2005).

### ***Producción de celulosa a partir de fermentaciones***

La selección del microorganismo adecuado para la síntesis de BC es un aspecto crucial en la optimización de su producción. Varias cepas taxonómicamente relacionadas con los géneros *Azotobacter*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas*, *Salmonella* y *Sarcina ventriculi* tienen la capacidad de sintetizar CB. Sin embargo, *Gluconacetobacter xylinus*, *Gluconacetobacter hansenii* y *Gluconacetobacter pasteurianus* han demostrado ser las cepas más efectivas en la producción de CB desde que fueron descubiertas por Adrian J. Brown en 1886 (Torres et al., 2019). Entre todas las cepas gramnegativas que producen BC, solo *Gluconacetobacter sp.* se clasifica como una bacteria del ácido acético, lo que la convierte en la única especie capaz de producir celulosa a niveles comerciales (Lin et al., 2013). Esta exclusividad de las bacterias del ácido acético se debe a sus características bioquímicas, que les permiten sintetizar celulosa como metabolito primario, lo que promueve un alto rendimiento de CB (Fernandes et al., 2020).

En su producción, se pueden emplear métodos de fermentación estática, agitada o en biorreactor. En la fermentación estática, la CB se forma como una película en la interfaz aire-líquido del medio de cultivo, lo que resulta en estructuras de red tridimensionales

delgadas con excelentes propiedades mecánicas (Wang et al., 2019). Por otro lado, en la fermentación agitada, la CB se presenta en forma de gránulos o hilos fibrosos, con menor grado de polimerización, resistencia mecánica y cristalinidad que las películas obtenidas en la fermentación estática (Shah et al., 2013). Sin embargo, la fermentación agitada es ampliamente utilizada con fines comerciales debido a su menor tiempo de producción, viabilidad económica y diversas aplicaciones como la inmovilización de proteínas y lipasas, la liberación de fármacos y la absorción de nanocompuestos (Fernandes et al., 2020).

La fermentación en biorreactor, que puede utilizar tanto cultivos estáticos como agitados, es una alternativa que se clasifica según el uso de aire enriquecido con oxígeno, un disco giratorio o un soporte de biopelícula equipado con un filtro giratorio o una membrana de silicona (Fernandes et al., 2020). Entre los biorreactores, el tipo de tanque agitado es el más común en la industria de la fermentación. Sin embargo, este tipo de biorreactor puede generar una suspensión de CB con alta densidad celular, lo que resulta en un fluido altamente viscoso, una limitación en la transferencia de oxígeno y un mayor consumo de energía debido a la agitación intensa requerida.

Por otro lado, el biorreactor de transporte aéreo es más eficiente energéticamente y genera menos tensión de corte que los reactores de tanque agitado. Al ser modificado, este tipo de biorreactor aborda los problemas relacionados con el suministro limitado de oxígeno durante la producción de CB, que se manifiesta en forma de gránulos elípticos. Además, otros tipos de reactores, como el disco giratorio o el lecho percolador, pueden ser opciones adecuadas para la producción de CB, ya que aumentan el suministro de oxígeno, proporcionan una mayor relación superficie/volumen y reducen las fuerzas de corte (Blanco Parte et al., 2020).

La utilización extensiva de CB se ha visto realmente limitada por su baja producción debido al bajo rendimiento y al cultivo tradicional estático a baja escala. Aunque la fermentación líquida con biorreactores de tanque agitado (STR) es común y preferida para la producción industrial de muchos metabolitos, la producción tradicional de BC utiliza condiciones de cultivo estáticas para obtener una película de celulosa en la superficie del

medio de cultivo (Singhania et al., 2022). Los avances en bioprocesos en los últimos años han llevado la producción de BC a un nivel superior. Sin embargo, persisten desafíos relacionados con los requisitos de aireación y los costos laborales asociados con el cultivo estático a gran escala.

### ***Aplicaciones actuales de la celulosa bacteriana***

La CB se ha comercializado en diversas formas, incluyendo alimentos dietéticos, membranas de filtración, aditivos para papel y apósitos para heridas (Lin et al., 2013).

#### ***Industria alimentaria***

La CB posee múltiples potencialidades en las industrias alimentarias debido a su alta pureza; variedad de texturas y formas (por ejemplo, partículas, esferas, filamentos, pulpas, películas y bigotes de múltiples formas); capacidad de adquirir cambios in situ, como colores y sabores del medio de cultivo; y proceso de producción sencillo. Teniendo en cuenta las propiedades mencionadas anteriormente, el CB puede utilizarse como adyuvante en alimentos y en la industria alimentaria (Choi et al., 2022).

La adición de CB a los alimentos aporta firmeza, propiedades de retención y mejor textura. Además, puede mejorar la calidad de ciertos alimentos al incorporar un sabor y aroma específicos. Un ejemplo notable es la nata de coco, un postre tradicional filipino que utiliza gel de CB cortado en cubos y fermentado con agua de coco, sumergido luego en almíbar de azúcar. Este postre dulce ha sido apreciado durante mucho tiempo en Filipinas y ahora está ganando popularidad en todo el mundo (Rachtanapun et al., 2021).

La CB ha sido evaluado por su potencial como estabilizador, suspensión, espesante y agente gelificante en la industria alimentaria. Además, ha demostrado ser útil como agente de suspensión termoestable y refuerzo para alimentos frágiles, así como hidrogel para mejorar la consistencia de los alimentos pastosos y reducir su pegajosidad (Choi et al., 2022). Por ejemplo, una pequeña adición de CB puede mejorar la textura del tofu y aumentar la fuerza del gel del tofu. También se ha utilizado en productos del mar japoneses para mejorar su rigidez y fragilidad, lo que les permite tolerar el proceso de envejecimiento.



Además, el CB ha mostrado estabilidad térmica al ser agregado a bebidas de chocolate, evitando la precipitación del cacao incluso después del tratamiento en autoclave (Khan & Kamal, 2021). También puede mejorar significativamente la pegajosidad de salsas cremosas, facilitando su aplicación. Por tanto, la CB se ha evaluado como aditivo alimentario para mejorar la estabilidad en una amplia gama de condiciones (Ullah et al., 2016).

### ***Medicina regenerativa***

Las membranas de celulosa bacteriana (CB) se han introducido como un material de apósito ideal para heridas debido a su alta biocompatibilidad in vivo y su capacidad para proporcionar un sustrato tridimensional óptimo para la unión celular (Helenius et al., 2006). La estructura microfibrilar de las membranas CB ofrece flexibilidad, alta capacidad de retención de agua e intercambio de gases, manteniendo una barrera física que reduce el dolor y la infección bacteriana. Además, permiten la transferencia de fármacos a la región herida (Helenius et al., 2006).

Las membranas CB se utilizan comercialmente como dispositivos de vendaje para heridas, siendo marcas comerciales como Bionext®, Membracell® y Xcell® algunas de las opciones disponibles. Comparadas con gasas convencionales o materiales sintéticos, las membranas CB han demostrado una mayor eficiencia en tratamientos de cicatrización de heridas, incluidas las heridas del pie diabético, las heridas crónicas y las quemaduras (Kwak et al., 2015).

Estas membranas facilitan la epitelización incluso en quemaduras de segundo y tercer grado, sin necesidad de cambios de apósitos diarios, manteniendo un ambiente húmedo y facilitando la eliminación de residuos necróticos (Czaja et al., 2006). Sin embargo, la CB no tiene actividad contra la infección bacteriana, una limitación importante en heridas crónicas y lesiones de difícil curación. Además, los intentos de adsorber fármacos pueden producir tasas de liberación rápida, no adecuadas para el intervalo de oclusión prolongado

requerido con el uso de CB. Estas limitaciones son importantes consideraciones para su aplicación extensiva (Picheth et al., 2017).

### **Aplicaciones ambientales**

La CB se destaca como un filtro de membrana efectivo para la separación de microorganismos, contaminantes orgánicos y cationes metálicos en cuerpos de agua contaminados. Estudios han demostrado que las membranas de CB pueden eliminar eficazmente bacterias como *E. coli* de efluentes lácteos y textiles, con tasas de rechazo de solutos de hasta el 95% en membranas laminadas con  $\beta$ -quitina o sulfonato de quitina desacetilada (S-DAC). Además, las membranas de CB modificadas con ácido acrílico pueden eliminar iones metálicos, incluyendo metales pesados (Alves et al., 2020)

Los nanocompuestos que incluyen CB también han demostrado éxito como agentes antimicrobianos y en la detección de contaminantes orgánicos. Por ejemplo, el nanocompuesto de CB con nanopartículas de plata muestra una fuerte actividad antimicrobiana contra bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *E. coli* (Rodrigues et al., 2016). Asimismo, se ha utilizado el nanocompuesto de CB con plata para detectar aminoácidos y otros analitos orgánicos en soluciones acuosas, mediante mejoras en la dispersión Raman detectadas por espectroscopía Raman. En otro estudio (Gupta & Batul, 2017), hidrogeles de CB con nanopartículas de oro se han utilizado para capturar analitos orgánicos como 4-fluorobencenotiol (4-FBT) y ácido fenilacético (PAA), demostrando la versatilidad de la CB en aplicaciones de detección y eliminación de contaminantes.

### **Productos biodegradables**

Los productos biodegradables presentan un impacto ambiental reducido debido a su capacidad para descomponerse más rápidamente, facilitado por factores naturales como la luz solar, la humedad, la temperatura, los hongos y otros agentes biológicos. Este proceso se produce de manera ecológica y sin la intervención humana, lo que evita la acumulación de residuos tóxicos en la naturaleza (Riofrio et al., 2019).

La descomposición de productos biodegradables es fundamental para el equilibrio del ecosistema, ya que la materia orgánica descompuesta proporciona energía y materiales que pueden ser reutilizados por la naturaleza para generar nuevos organismos y nutrientes. En este sentido, los productos biodegradables se integran de manera armoniosa en los ciclos naturales de la Tierra, minimizando su impacto ambiental y promoviendo la sostenibilidad (Riofrio et al., 2019).

Los polímeros biodegradables constituyen un campo en constante crecimiento, con una amplia variedad de materiales que se sintetizan o se encuentran de forma natural en el entorno durante los ciclos de crecimiento de los organismos. Estos polímeros pueden clasificarse de diversas formas (Avérous & Pollet, 2012).

Una posible clasificación se basa en el proceso de síntesis de los polímeros:

- i. Polímeros de biomasa, como el almidón o la celulosa, que se obtienen a partir de recursos agrícolas.
- ii. Polímeros producidos mediante procesos microbianos, como los polihidroxialcanoatos (PHA).
- iii. Polímeros sintetizados químicamente a partir de monómeros obtenidos de recursos agrícolas, como el ácido poliláctico (PLA).
- iv. Polímeros derivados de recursos fósiles.

Es importante destacar que solo las tres primeras categorías se derivan de recursos renovables. Además, estos polímeros biodegradables pueden agruparse en dos categorías principales: los agropolímeros (categoría i) y los poliésteres o biopoliésteres biodegradables (categorías ii-iv) (Avérous & Pollet, 2012).

### ***Aplicaciones de la celulosa bacteriana en productos biodegradables***

Cada año, el consumo de envases genera una gran cantidad de residuos, lo que plantea preocupaciones medioambientales debido a la falta de biodegradabilidad de los materiales plásticos convencionales, como el polietileno, el polipropileno y el poliestireno.

Ante esta problemática, se busca desarrollar materiales de embalaje sostenibles, y la CB emerge como una alternativa prometedora (Choi et al., 2022).

La CB puede ser utilizada como material de envasado de alimentos gracias a su estructura reticulada delgada y porosa, que filtra microorganismos y hongos presentes en el aire, lo que puede extender la vida útil de los alimentos. Estudios han demostrado que las películas de CB pueden filtrar contaminantes transmitidos por el aire mejor que los envoltorios de plástico convencionales (Coban et al., 2021). Además, se han desarrollado películas y materiales compuestos basados en CB con propiedades mejoradas, como resistencia a la tracción, estabilidad térmica y propiedades antibacterianas, lo que los hace adecuados para aplicaciones de envasado de alimentos. Estos avances incluyen el uso de nanocristales de celulosa bacteriana (BCNC) como material de refuerzo en películas para envases alimentarios, lo que mejora su resistencia y estabilidad (Salari et al., 2018).

### ***Investigaciones en la fabricación de biomateriales***

Los nanocompuestos poliméricos están recibiendo una considerable atención debido a su bajo impacto ambiental, seguridad, renovabilidad y potencial para una producción a gran escala de bajo costo. Los nanomateriales celulósicos, en particular, ofrecen ventajas significativas como refuerzos renovables para la producción de biocompuestos de alto rendimiento (Lee et al., 2014).

Existen varios tipos de nanocelulosa entre ellos se encuentra la CB. Estos materiales pueden convertirse en diversas estructuras de refuerzo para aplicaciones como refuerzo distribuido, refuerzo plano o estructuras en red continua (Siró & Plackett, 2010).

La nanocelulosa se ha utilizado para reforzar una variedad de polímeros, incluyendo PP, poliestireno y PE de alta densidad, desde hace décadas. La incorporación de cantidades pequeñas de nanocelulosa puede mejorar significativamente las propiedades de los compuestos poliméricos, lo que los hace adecuados para muchas aplicaciones industriales y tecnológicas (Whitesides, 2005).

Sin embargo, un desafío clave es lograr una dispersión uniforme de la nanocelulosa en matrices poliméricas hidrófobas. Se necesitan métodos para obtener una distribución uniforme y una buena unión del relleno dentro de la matriz polimérica. Los CNC son considerados ideales para el refuerzo de matrices poliméricas debido a sus abundantes grupos hidroxilo en la superficie y sus altas relaciones superficie-volumen.

Los nanocompuestos poliméricos que utilizan nanocelulosa, especialmente CNC altamente cristalinos de superficie modificada, pueden mejorar las propiedades mecánicas, térmicas y de barrera de los compuestos resultantes. Además, la nanocelulosa puede mejorar la biodegradabilidad de los compuestos, lo que los hace más ecológicos en comparación con los polímeros tradicionales a base de petróleo (Xu & Wang, 2018).

La nanocelulosa ofrece una alternativa viable y sostenible para mejorar las propiedades de una variedad de polímeros y ofrece la posibilidad de desarrollar materiales poliméricos totalmente renovables y biodegradables. Sin embargo, se necesitan más investigaciones para optimizar la dispersión de la nanocelulosa y su compatibilidad con las matrices poliméricas para lograr aplicaciones comerciales efectivas (Xu & Wang, 2018).

### ***Perspectivas del uso de la celulosa de kombucha***

(Bryszewska et al., 2023) realizaron una investigación usando la celulosa producida a partir de la kombucha para la elaboración de "cuero vegano", en su estudio el SCOBY fue modificado con glicerol y luego alterada con polvo de manzana. El polvo de manzana sobre la superficie de la celulosa le confirió un recubrimiento uniforme en toda la superficie en forma de una capa sólida, homogénea y sin fisuras. El material adquirió un color en tonos marrones dependiendo de la cantidad de polvo utilizado en el proceso de modificación. Sin embargo, este color se puede cambiar fácilmente mediante teñido, porque el material acepta tintes para prendas, ampliando así su potencial de aplicación. Otra característica única del material que obtuvieron fue su olor: un delicado aroma natural a manzana seca. Sin embargo, el material tiene un uso limitado, ya que no es impermeable, por lo que requiere de modificaciones adicionales para limitar su hidrofiliidad.

Otro estudio como el de (Tsilo et al., 2023) utilizaron un biofloculante producido a partir de la levadura *Pichia kudriavzevii* obtenida del SCOBY de kombucha para el tratamiento de aguas residuales, al biofloculante le añadieron nanopartículas de hierro para luego usarlo en la eliminación diferentes tipos de contaminantes y colorantes que se encuentran en aguas residuales y soluciones. Los resultados mostraron que las nanopartículas de Fe biosintetizadas presentaban una actividad floculante altamente eficiente, alcanzando hasta un 85% con una dosis de 0,6 mg/ml. En cuanto a la eliminación de tintes, las nanopartículas demostraron una eficiencia superior al 65 %, alcanzando hasta un 93 % para la safranina. Además, se encontró que las nanopartículas de Fe tenían una notable eficacia en la eliminación de diversos contaminantes de aguas residuales, mostrando un potencial significativo para reducir tanto la demanda biológica de oxígeno (DBO) como la demanda química de oxígeno (DQO) en las muestras tratadas.

## Capítulo II

### Metodología

#### Ubicación del área de investigación

##### *Ubicación política*

País:	Ecuador
Provincia:	Santo Domingo de los Tsáchilas
Cantón:	Santo Domingo de los Colorados
Parroquia:	Luz de América
Sector:	Vía Quevedo, Km 24

##### *Ubicación ecológica*

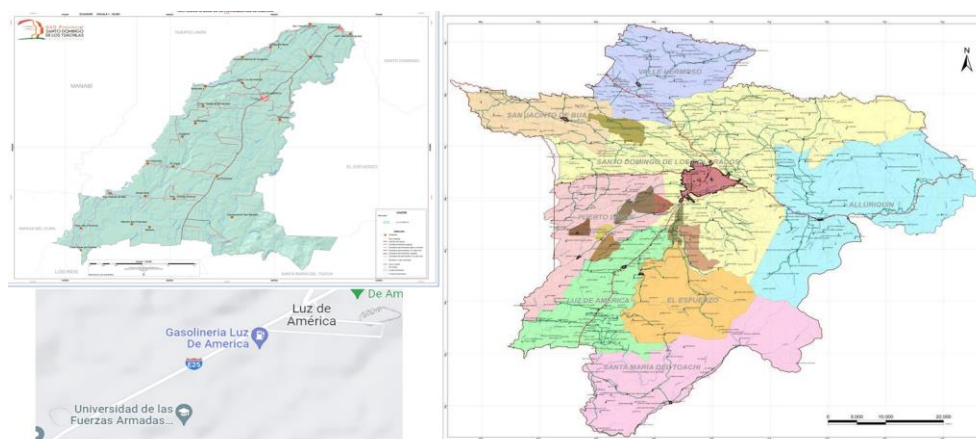
Zonas de vida:	Bosque siempre verde de tierras bajas Bosque húmedo tropical Bosque siempre verde pie montano
Temperatura:	23 - 26 °C
Precipitación:	2860 mm/año
Humedad relativa:	85%
Heliofanía:	680 horas luz/año
Suelos:	Paisaje pie de Monte

*Fuente:* GAD Provincial SD

##### *Ubicación geográfica*

El presente proyecto de integración curricular se realizó en los laboratorios de Microbiología en Alimentos, Bromatología y Biociencias, y Biotecnología Industrial, instalaciones de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, sede Santo Domingo

Latitud:	00°24' 36°
Longitud:	00°24' 36°
Altitud:	380 msnm

**Figura 4** Mapa de ubicación geográfica del área de investigación

*Nota.* GAD Provincial Santo Domingo de los Tsáchilas y Google Maps.

## Materiales

**Tabla 5** Materiales para el aislamiento del microbiota de Kombucha

Equipos	Reactivos	Insumos	Muestra
Plancha térmica	Agua Destilada	Cajas Petri	Kombucha de té negro y flor de Jamaica
Autoclave	Medio agar	Gradilla	
Incubadora	Medio PDA	Tubos de ensayo	
Petrifilm	Gentamicina Natamicina	Matraz Erlenmeyer	

*Nota.* Elaboración propia

**Tabla 6** Materiales para la preparación de kombucha

Equipos	Reactivos	Insumos	Muestra
Autoclave	Agua Hervida Azúcar	Frascos de vidrio	SCOBY de té negro y flor de Jamaica

*Nota.* Elaboración propia



**Tabla 7** *Determinación de los parámetros de crecimiento microbiano*

<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>	<b>Insumos</b>	<b>Muestra</b>
Refractómetro	Agua destilada	Gotero	Kombucha de té
Espectrofotómetro		Cubetas	negro y flor de Jamaica
Balanza analítica		Pipeta	
pH-metro		Tubos de ensayo	

**Tabla 8** *Análisis microbiológico de las colonias*

<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>	<b>Insumos</b>	<b>Muestra</b>
Cámara de flujo laminar	Agua destilada	Pipeta	Kombucha de té
Microscopio	Cristal violeta	Mechero de alcohol	negro y flor de Jamaica
	Lugol	Pipeta	
	Safranina	Tubos de ensayo	
	Etanol 70%	Gradillas	

*Nota.* Elaboración propia

**Tabla 9** *Análisis físicos y purificación de la celulosa obtenida*

<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>	<b>Insumos</b>	<b>Muestra</b>
Balanza analítica	Agua destilada	Pipeta	Kombucha de té
Micrómetro digital	NaOH	Matraz	negro y flor de Jamaica
Estufa	Ácido acético	Vaso de precipitación	
Potenciómetro			

*Nota.* Elaboración propia

**Tabla 10** *Análisis físicos de los productos biodegradables*

<b>Equipos</b>	<b>Reactivos</b>	<b>Insumos</b>	<b>Muestra</b>
Balanza analítica	Agua destilada	Pipeta	Kombucha de té
Micrómetro digital		Matraz	negro y flor de Jamaica
Estufa		Vaso de precipitación	
Potenciómetro		Soporte universal	
Durómetro			
Dinamómetro			

*Nota.* Elaboración propia

## **Métodos**

### ***Aislamiento de la microbiota natural de las muestras Kombucha***

Se procedió a realizar la preparación de los medios de Agar y PDA de acuerdo con las indicaciones del fabricante en un volumen total de 320 mL por cada medio específico.

Los medios se esterilizaron en una autoclave a una temperatura de 121° y 21 PSI de presión durante 20 minutos. Al medio de agar se le añadió 50 mg/L de natamicina, mientras que al medio de PDA se le añadió 50 mg/L de gentamicina. Luego, se dispensaron 20 mL de cada medio en seis cajas petri y se dejaron enfriar.

De las muestras de kombucha de cada té, se realizó una dilución seriada hasta 10-10 con agua peptona para el aislamiento de bacterias y agua destilada estéril para el aislamiento de levaduras. Se tomó la dilución 10-10 de cada dilución seriada para realizar la siembra en las placas petri.

Se realizaron 3 repeticiones de siembra utilizando 1 mL de inóculo por cada tipo de té dentro de la cámara de flujo laminar. En total se obtuvieron 24 placas como unidades experimentales.

Las placas con medio agar se incubaron a 37°C durante un periodo de 48h horas boca abajo, mientras que las placas con medio PDA se incubaron a 25°C durante 5 días, siguiendo la literatura. Pasado los días de incubación, se realizó la identificación microscópica de las colonias.

Para el conteo de la cantidad de microorganismos en placa se siguió la normativa INEN 1529-7 (2016) utilizando el siguiente cálculo:

$$\frac{UFC}{ml} = \frac{N^{\circ} \text{ de colonias} * \text{Inverso del factor de dilución}}{\text{Volumen inoculado (mL)}}$$

### ***Identificación por microscopia***

Se tomó una muestra de colonia y se la fijó en un portaobjetos en solución salina estéril. Se procedió a la observación microscópica a través de la tinción Gram: cristal violeta, 1 minuto; Lugol, 1 minuto; lavado con etanol, 30 segundos; safranina, 1 minuto. Se

observó las placas en 40X y se añadió aceite de inmersión para la observación a 100X. se identificó la morfología de las muestras para la determinación del género bacteriano.

***Preparación de los dos tipos de kombucha a partir de té negro y té de Flor de Jamaica, a diferentes concentraciones de sacarosa para el crecimiento de los inóculos.***

Se utilizaron frascos de vidrio de 1 L de volumen para la preparación de kombucha. Los frascos se lavaron con jabón para biberón de bebé, luego se esterilizaron en autoclave a 121°C y 21 PSI de presión durante 15 minutos, finalmente se secaron en la estufa a 35°C durante 24 horas.

Se hirvieron 24 L de agua en una olla grande y se destinaron 12 L para la preparación de cada té. Se dispensaron 2 bolsitas de cada té por cada litro de agua caliente y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Se dispensaron 0,8 L de cada tipo de té en cada uno de los recipientes. Luego, se prepararon diluciones de cada tipo de té al 10%, 15% y 20% de sacarosa (100 g, 150 g y 200 g respectivamente), se añadieron 100 mL de la kombucha madre y 100 g de cada SCOBY. Se realizaron 3 réplicas de cada tratamiento obteniéndose 24 unidades experimentales.

Los inóculos se dejaron fermentar a temperatura ambiente en un lugar oscuro y libre de humedad durante 30 días.

***Análisis de la cinética de crecimiento microbiano y rendimiento de producción de celulosa de la microbiota de kombucha.***

Se usó como referencia la metodología empleada por Agatângelo (2007) con modificaciones:

Se extrajo una muestra de 1 mL de cada té a distintas concentraciones de sacarosa previo a la inoculación para usarse como blanco en la calibración del espectrofotómetro a 600 nm. Posteriormente, se realizó una dilución seriada de la kombucha madre hasta 10-6

y se midieron los datos de absorbancia de cada dilución como curva de calibración. El valor de la UFC se tomó de la siembra previa de las cajas Petri como referencia.

Se tomaron muestras de 1 mL las kombuchas inoculadas a los días 0, 3, 5, 7, 11, 15, 17 y 21 días para el análisis del crecimiento microbiano. Adicionalmente, se tomaron las medidas de los grados brix y pH de las muestras para la evaluación de la disminución del sustrato principal (sacarosa) y aumento de la acidez conforme el paso del tiempo.

### ***Purificación de la celulosa cosechada***

Se realizó el tratamiento alcalino de acuerdo con la metodología empleada por Tuya et. al, (2021) donde la celulosa se lavó con agua del grifo, después se suspendieron en 200 ml de NaOH al 2 % (w/v) a 80 °C durante 20 min y en 200 ml de ácido acético al 2 % (v/v), este tratamiento se repitió tres veces; finalmente, la película fue lavada con agua destilada estéril. Posteriormente, la celulosa se filtró en un embudo Büchner con un papel filtro de velocidad media y se dejó secar al aire.

### ***Análisis físicoquímicos las características de la celulosa obtenida***

#### **Calibre**

La celulosa cosechada se dispuso en papel absorbente y se tomaron las medidas de la celulosa producida con un pie de rey, diámetro y espesor en mm.

#### **pH**

Se realizó la medición superficial de pH durante la producción de celulosa en los biorreactores para el estudio de su acidez. Para el día 21 en la cosecha, se midió el pH de las láminas antes y después de su purificación.

## Humedad

Para la determinación de humedad se usó una lámina de celulosa como muestra, y se procedió de acuerdo con el método gravimétrico en estufa a 100°C durante 3 h.

$$\%Humedad = \frac{P_{inicial\ celulosa} - P_{celulosa\ seca}}{P_{inicial\ celulosa}} \times 100\%$$

## Gramaje

Se utilizó una balanza analítica de precisión  $\pm 0,001$  y se midió el área total de la muestra ( $A_{real}$ ) junto con el área de la balanza ( $A_{esp.}$ ). De acuerdo con las normas ISO 536

$$P_{real} = \frac{A_{esp.} \times peso\ obtenido}{A_{real}}$$

El gramaje se expresó en g/cm<sup>2</sup>.

## Densidad

De acuerdo con las normas ISO 534:2009 se realizó la determinación de la densidad aparente usando una balanza analítica de precisión  $\pm 0,001$  y un micrómetro para la medida del espesor

$$\rho_s = \frac{gramaje\ (g/cm^2)}{espesor\ (cm)}$$

## Elaboración de bioplástico

La elaboración de bioplástico se llevó a cabo siguiendo la metodología de (Avellán y otros, 2020) con modificaciones. La celulosa se purificó y secó de acuerdo con lo expuesto antes, posteriormente se molió hasta hacerlo polvo para obtener una consistencia homogénea.

Se usó una concentración de celulosa al 10% con una concentración de glicerina al 10% como espesante. Primero se mezcló la celulosa en polvo en 100 mL de agua destilada hasta homogeneizar en estufa evitando que la temperatura no sobrepase de los 70°C y en

agitación constante. Posteriormente, se adicionaron 15 mL de ácido acético al 3% (v/v) al goteo en agitación constante hasta que quedó viscosa y dejó de soltar vapor. Finalmente, la mezcla de bioplástico se vertió sobre placas de vidrio y se secó en estufa a 100°C durante seis horas. Para la obtención de papel, se siguió el mismo procedimiento con la modificación de que se mezcló con cola blanca la mezcla de y se secó por el método de planchado.

#### **Determinación de dureza**

Se determinó la dureza tanto del papel como del bioplástico empleando el durómetro Shore A, el cual nos dará valores en la unidad de medida shore en cada muestra.

#### **Determinación de la elasticidad.**

Para la cuantificación de la elasticidad tanto del papel como del bioplástico se ajustó la muestra en un soporte universal y se la estiró midiendo la fuerza requerida hasta el punto de ruptura con ayuda de un dinamómetro.

#### **Determinación de solubilidad en agua**

El bioplástico como el papel seco se colocaron en agua destilada con una agitación de 100 rpm durante una hora, posterior se realizó una filtración y se colocó a la estufa en 45 °C hasta secarse y luego a 105 °C hasta lograr un peso constante. Finalmente se calculó el porcentaje de acuerdo con la ecuación.

$$\% \text{ Solubilidad} = \frac{\text{Peso inicial seco} - \text{peso final seco}}{\text{Peso inicial seco}} \times 100$$

### Diseño estadístico

Se aplicó un diseño factorial (A=2x B=3), el modelo lineal es el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = Observación de la variable de respuesta obtenida del tratamiento con el i-ésimo nivel

A, el j-ésimo nivel A, el j-ésimo nivel B y la repetición k-ésima

$\mu$  = Media general de la variable dependiente del experimento

$A_i$  = Efecto del i-ésimo nivel del factor A

$B_j$  = Efecto del j-ésimo nivel del factor B

$AB_{ijk}$  = Efecto de la interacción del i-ésimo nivel del factor A y el j-ésimo nivel del factor B en su repetición K

$\varepsilon_{ijk}$  = Error experimental

### **Coeficiente de variación**

Para la obtención del cálculo del coeficiente de variación se empleó la siguiente fórmula:

$$cv = \frac{\sqrt{CMe}}{x}$$

Donde:

$Cv$  = Coeficiente de variación

$CMe$  = Cuadrado medio del error

$X$  = Media del experimento

### **Tipo de diseño experimental**

Para el presente estudio se aplicó un ANOVA con arreglo factorial AxB (A= 2 x B = 3) de bloques completamente al azar en el estudio de la obtención de celulosa a partir de la fermentación de kombucha.



**Tabla 11** *Análisis de varianza para la obtención de celulosa*

<b>Fuentes de variación</b>	<b>Fórmula</b>	<b>Grados de libertad</b>
Réplicas	R-1	2
Tipos de té (A)	A-1	1
Concentración de sacarosa (B)	B-1	2
AxB	(A-1) (B-1)	2
Error experimental	(AB-1) (R-1)	10
Total	ABR-1	17

*Nota.* Elaboración propia

### **Variables dependientes del ANOVA**

Los factores evaluados en la primera parte fueron dos tipos de té para la elaboración de kombucha: Té negro y Té de flor de Jamaica. Tres concentraciones de sacarosa: 10%, 15% y 20% (tabla X).

**Tabla 12** *Factores y niveles de la producción de celulosa*

<b>Factores</b>	<b>Simbología</b>	<b>Niveles</b>
Tipo de té (A)	a0	Té negro
	a1	Té Flor de Jamaica
Concentración de sacarosa (B)	b0	10% (p/v)
	b1	15% (p/v)
	b2	20% (p/v)

*Nota.* Elaboración propia

**Tabla 13** *Tratamientos del diseño para la producción de celulosa*

<b>Tratamientos</b>	<b>Simbología</b>	<b>Descripción</b>
T1	a0b0	Té negro + Sacarosa 10%
T2	a0b1	Té negro + Sacarosa 15%
T3	a0b2	Té negro + Sacarosa 20%
T4	a1b0	Té Flor de Jamaica + Sacarosa 10%
T5	a1b1	Té Flor de Jamaica + Sacarosa 15%
T6	a1b2	Té Flor de Jamaica + Sacarosa 20%

*Nota.* Elaboración propia

Bloques y repeticiones

**Tabla 14** *VARIABLES para medir la producción de celulosa*

<b>VARIABLES fisicoquímicas</b>
pH
Grados brix
Humedad

## Capítulo III

### Resultados

#### Identificación microbiana

La kombucha es un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras utilizado en la producción de una bebida fermentada. Las bacterias ácido-lácticas se encuentran presentes en la Kombucha, estas transforman los azúcares presentes en ácido láctico (Tanya & Leiva, 2019), el cual es después metabolizado por las bacterias del género *Gluconobacter*, conocidas por su capacidad de producir celulosa bacteriana.

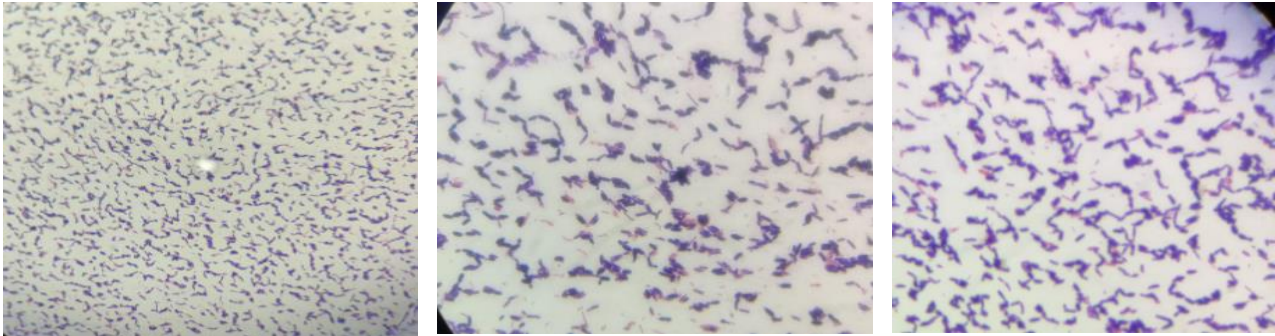
En la figura, se observan numerosas estructuras teñidas de color púrpura oscuro, lo cual indica que son bacterias Grampositivas y unas cuantas, teñidas de rosado, indicador de la presencia de Gramnegativas. Las bacterias ácido-lácticas son tolerantes a la acidez con un amplio rango de pH entre 3,2 y 9,6; aunque la mayoría crece en pH entre 4-4,5 (Tanya & Leiva, 2019). Aunque las bacterias del género *Lactobacillus* sp. no son comunes en la kombucha, los estudios de Bodgan et al., (2018) y Pei et al., (2020) corroboran su presencia, al aislar *Lactobacillus plantarum* encontrado en muestras de kombucha que mejoran el efecto probiótico de la bebida (Bodgan et al., 2018) y su posterior aplicación para la extracción de bacteriocidas (Pei et al., 2020).

Por otro lado, las estructuras teñidas de rosada son consistentes con el género *Gluconobacter*, ya que son bacterias Gramnegativas comúnmente encontradas en la kombucha. Además, las bacterias presentan diversas formas, desde cocos (estructuras esféricas) hasta bacilos (estructuras alargadas). Esta variedad morfológica es característica de los cultivos de kombucha, donde coexisten diferentes especies y etapas de desarrollo bacteriano.

La distribución dispersa y aparentemente aleatoria de las bacterias en la preparación microscópica también es típica de muestras de kombucha, donde las bacterias se encuentran suspendidas en el medio líquido. Además de las bacterias, en los cultivos de kombucha también están presentes levaduras, que son responsables de parte de la

fermentación. Sin embargo, las levaduras no se tiñen de manera efectiva con la tinción de Gram y, por lo tanto, no se observan claramente en la figura.

**Figura 5** Tinción de Gram en muestras de Kombucha

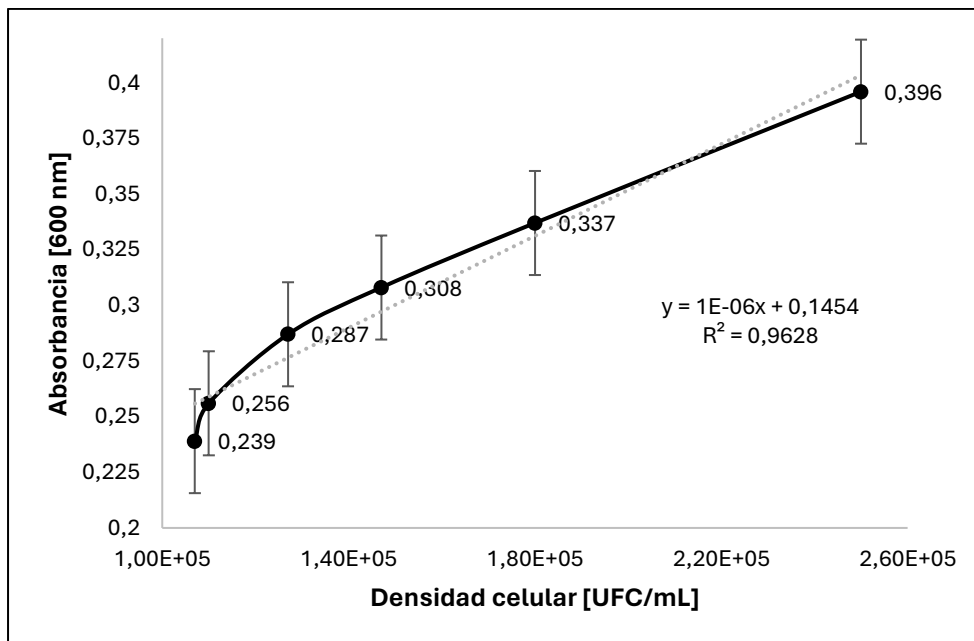


Nota. Elaboración propia

### Análisis de la cinética de crecimiento microbiano

Para evaluar el crecimiento microbiano a lo largo del tiempo, se realizó una curva de relación a partir de la kombucha madre de cada tipo de té (Figuras 6 y 7).

**Figura 6** Resultados de absorbancia de la kombucha de té negro

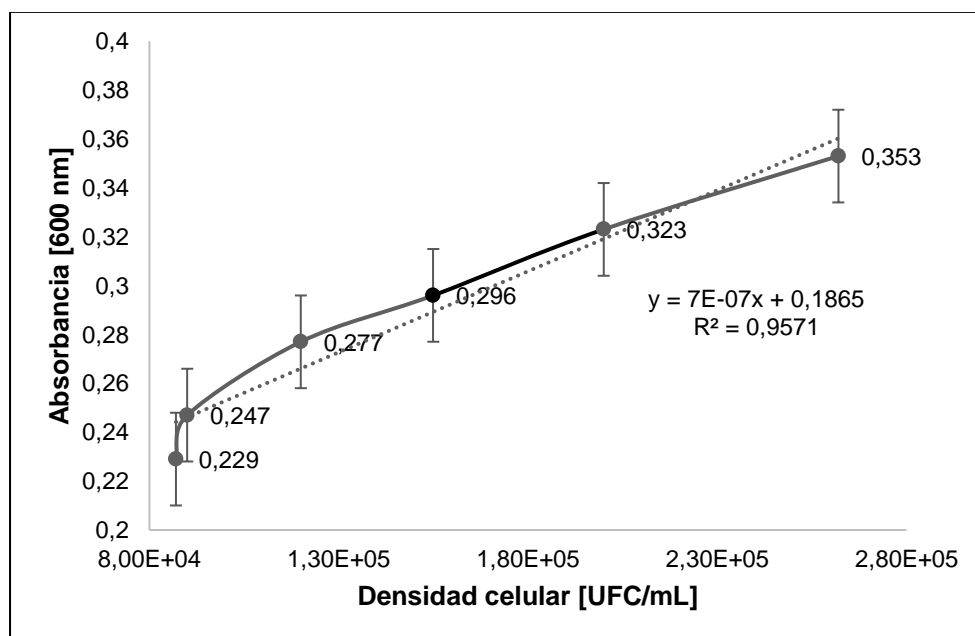


Nota. Elaboración propia

La figura 6, muestra la relación entre la densidad celular y la absorbancia obtenida para una muestra de kombucha utilizando té negro como sustrato. El eje horizontal representa la densidad celular (UFC/ml), mientras que el eje vertical muestra los valores de absorbancia. La relación lineal sigue una tendencia ascendente, lo que indica que a medida

que aumenta la densidad celular, también aumenta la absorbancia de manera proporcional. Con lo que respecta la ecuación de la recta, de regresión lineal ajustada a los datos es  $y = 1E-06x + 0,1454$ , donde “y” representa la absorbancia y “x” la densidad celular. El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) es 0,9628, lo que indica un buen ajuste de los datos al modelo lineal.

**Figura 7** Resultados de absorbancia de la kombucha de té de Jamaica



*Nota.* Elaboración propia

La figura 7, muestra la relación entre la densidad celular y la absorbancia obtenida para una muestra de kombucha utilizando té de Jamaica como sustrato. El eje horizontal representa la densidad celular (UFC/ml), mientras que el eje vertical muestra los valores de absorbancia. La relación lineal sigue una tendencia ascendente, lo que indica que a medida que aumenta la densidad celular, también aumenta la absorbancia de manera proporcional. Con lo que respecta la ecuación de la recta, de regresión lineal ajustada a los datos es  $y = 7E-07x + 0,1865$ , donde “y” representa la absorbancia y “x” la densidad celular. El coeficiente de determinación ( $R^2$ ) es 0,9571, lo que indica un buen ajuste de los datos al modelo lineal.

El crecimiento microbiano se caracteriza por un proceso ordenado de aumento en la cantidad de constituyentes químicos de las células bacterianas, que implica la replicación de

todas sus estructuras a partir de los nutrientes disponibles en el medio circundante (Cabeza Herrera, 2013).

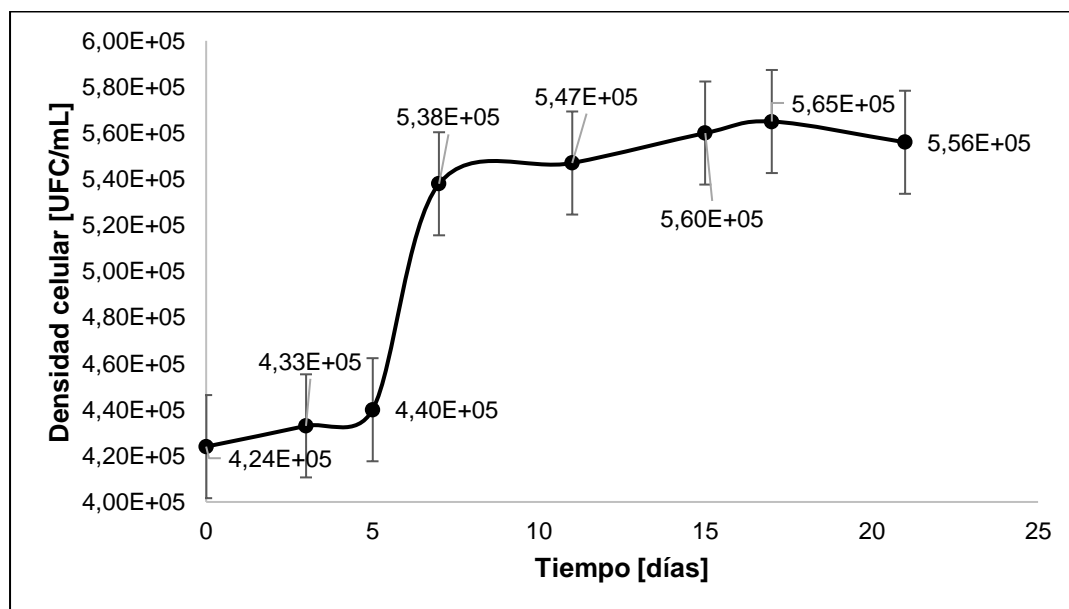
En el proceso fermentativo de la kombucha se observa un incremento tanto en la masa celular como en el número total de microorganismos. Sin embargo, no existe una relación constante entre estos dos parámetros, ya que cada especie que forma parte del consorcio microbiano de la bebida puede variar en tamaño, velocidad de crecimiento y densidad celular en respuesta a las condiciones específicas del cultivo. Por lo tanto, es esencial distinguir entre la concentración celular, que representa el número de células por unidad de volumen de cultivo, y la densidad bacteriana, que se refiere al protoplasma total por unidad de volumen (Cabeza Herrera, 2013).

Para la muestra de té negro se apreció una concentración inicial de  $2,50E+05$  UFC/mL en una dilución de  $10^{-1}$  mientras que para el té de Jamaica se apreció una concentración inicial de  $2,62E+05$  UFC/mL en la dilución de  $10^{-1}$  de la kombucha madre. Este proceso de crecimiento microbiano en la kombucha está influenciado por una variedad de factores intrínsecos y extrínsecos, como el tipo de infusión, la temperatura, el pH y la concentración de sustrato (Jayabalan et al., 2014).

La figura 8 muestra la variación de la densidad celular (UFC/ml) en una muestra de kombucha utilizando té negro como sustrato, a lo largo del tiempo de incubación expresado en días.

En los primeros días (0 al 5), no se observa un aumento significativo en la densidad celular, lo que sugiere una fase de latencia o adaptación de los microorganismos al medio de cultivo. Además, se observa una fase exponencial a partir del día 7, alcanzando un valor máximo de  $5,47E+05$  UFC/ml al día 11. La fase estacionaria se alcanzó el día 11, la densidad celular se mantiene relativamente estable, oscilando entre  $5,60E+05$  y  $5,65E+05$  UFC/ml hasta el día 17. La fase de declinación: A partir del día 17, se observa una ligera disminución en la densidad celular, alcanzando un valor de aproximadamente  $5,56E+05$  UFC/ml al final del período evaluado (día 21). Esta disminución podría indicar el inicio de la fase de declinación o muerte celular.

**Figura 8** Cinética de crecimiento microbiano en la kombucha de té negro



*Nota.* Elaboración propia

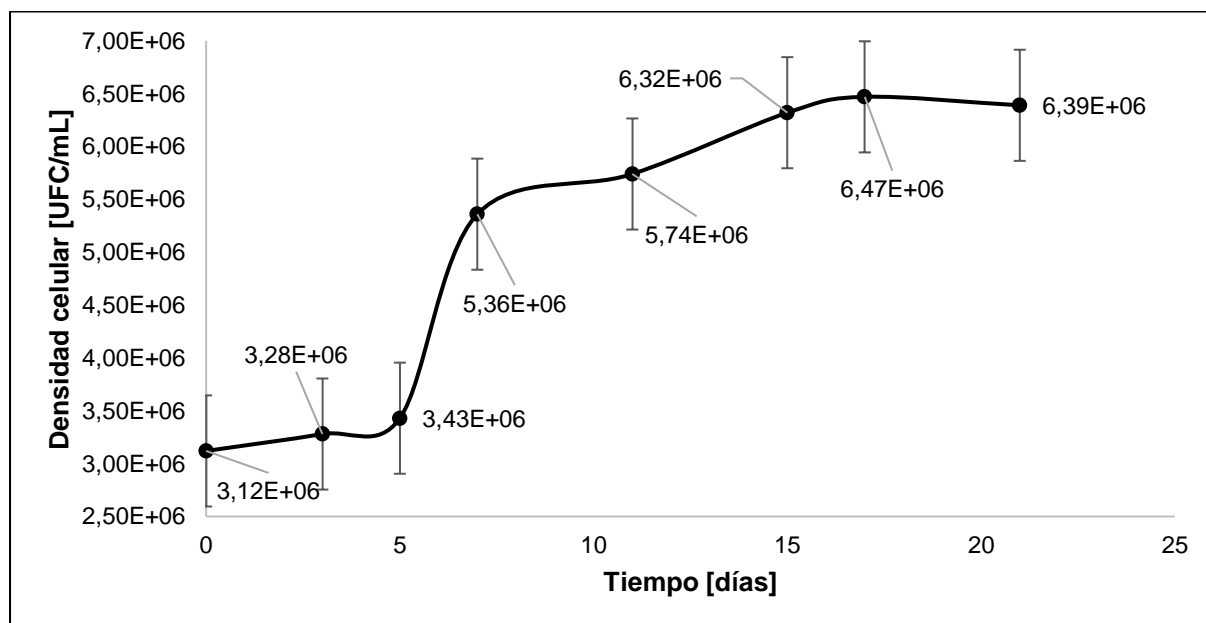
La figura 9 muestra la variación de la densidad celular (UFC/ml) en una muestra de kombucha utilizando té de Jamaica como sustrato, a lo largo del tiempo de incubación expresado en días.

En los primeros días (0 al 5), no se observa un aumento significativo en la densidad celular ( $3,43E+06$ ), lo que sugiere una fase de latencia o adaptación de los microorganismos al medio de cultivo. Además, también se observa una fase exponencial hasta el día 7 ( $5,36E+06$ ), manteniéndose relativamente estable y con un crecimiento no tan rápido hasta el día 17 ( $6,47E+06$ ). A partir del día 17, se observa una ligera disminución en la densidad celular, alcanzando un valor de  $6,39E+06$  UFC/ml al final del período evaluado (día 21). Esta disminución podría indicar el inicio de la fase de declinación o muerte celular.

Este patrón de crecimiento microbiano, con fases de latencia, exponencial, estacionaria y declinación, es típico en cultivos microbianos y refleja la dinámica de crecimiento de las bacterias y levaduras presentes en la kombucha.

Además, se aprecia diferencias en las curvas de crecimiento entre los tipos de té, mostrando que la composición de la preparación influye en el rendimiento de crecimiento microbiano.

**Figura 9** Cinética de crecimiento microbiano en la kombucha de té de Jamaica



*Nota.* Elaboración propia

Durante el monitoreo y la gestión de los procesos fermentativos, es crucial tener una estimación rápida del crecimiento bacteriano. Para esto, se han desarrollado métodos turbidimétricos que permiten medir la absorbancia de las bacterias en el caldo de fermentación. Para determinar el crecimiento microbiano, se extrae una muestra del caldo de fermentación (fuera de línea) y se mide su absorbancia con un espectrofotómetro o un colorímetro, utilizando una longitud de onda constante (Bustos Cosios, 2017).

El uso de un espectrofotómetro para medir la densidad óptica es una manera rápida y sencilla de obtener la curva de crecimiento del microorganismo. Estas mediciones ofrecen información valiosa para el control del proceso de fermentación. Por lo tanto, resulta beneficioso realizar estas mediciones directamente en el proceso (en línea) para obtener valores en tiempo real (Bustos Cosios, 2017). El estudio de (Jaramillo et al., 2014) realizó la medición de la densidad óptica para la bacteria *Gluconacetobacter xylinus*, un microorganismo productor de celulosa, encontrándose resultados similares en la densidad óptica con respecto al tiempo.



### **Análisis factorial de la producción de celulosa**

Se aplicó un Diseño Factorial (A=2 x B=3) utilizando un modelo lineal generalizado para evaluar las variables dependientes: pH, grados Brix y humedad en el líquido de Kombucha. Posteriormente, se llevaron a cabo análisis microbiológicos. Los datos fueron recopilados del licor de Kombucha para cada factor (A=tipo de té; B=porcentaje de sacarosa) y sus respectivas interacciones A x B.

Los resultados se presentan mediante la media y la desviación estándar de cada tratamiento analizado. Para la comparación de tratamientos, se aplicó la prueba de significación Tukey, con un nivel de significancia establecido en  $p \leq 0,05$ . La interpretación de los resultados se llevó a cabo utilizando los programas IBM SPSS Statistics versión 28.0.1.1 e InfoStat versión 2020.

### ***Resultados de análisis de varianza para las variables dependientes fisicoquímicas***

En el análisis de varianza realizado para la variable dependiente humedad, se evaluaron diversas fuentes de variación. La tabla 16 proporciona información clave sobre la significancia de estas fuentes. Se encontró una diferencia altamente significativa en el tipo de té, indicando que este factor influye significativamente en la humedad. El factor B (sacarosa) también presentó una diferencia altamente significativa, sugiriendo que la presencia y concentración de sacarosa afecta significativamente la humedad. La interacción AB (tipo de té \* sacarosa) resultó altamente significativa, indicando que la combinación de tipo de té y sacarosa tiene un efecto conjunto significativo en la humedad. La falta de significancia en las réplicas sugiere que los datos recopilados sugieren que los datos de humedad fueron recopilados de manera normal. La variabilidad no explicada por las fuentes consideradas se refleja en el error experimental.

**Tabla 15** Análisis de varianza para % humedad

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
A: Tipo de té	2,501	1	2,501	28,704	,000**
B: Sacarosa	12,469	2	6,234	71,541	,000**
(AB): Tipo de té* Sacarosa	24,661	2	12,330	141,496	,000**
Replicas	,053	2	,027	,304	,744
Error experimental	,871	10	,087		
Total	150296,693	18			

*Nota.* Los valores p marcados con (\*) indican una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), mientras que los marcados con (\*\*) señalan una diferencia altamente significativa ( $p < 0.001$ ).

En comparación con un nivel de significancia establecido de  $p < 0.05$ , los resultados del análisis de varianza para la variable dependiente pH (Tabla 17) indican lo siguiente: La diferencia observada en el tipo de té no es estadísticamente significativa ( $F=0.499$ ,  $p=0.496$ ). En cuanto al factor B (sacarosa), se encontró una diferencia altamente significativa ( $F=4.527$ ,  $p=0.040$ ), sugiriendo que la presencia y concentración de sacarosa afectan significativamente el pH. La interacción AB (tipo de té \* sacarosa) también resultó ser altamente significativa ( $F=5.233$ ,  $p=0.028$ ), indicando que la combinación de tipo de té y sacarosa tiene un efecto conjunto significativo en el pH. Las réplicas no mostraron significancia estadística ( $F=0.003$ ,  $p=0.997$ ), sugiriendo que los datos recopilados para el pH se distribuyen de manera normal. La variabilidad no explicada por las fuentes consideradas se refleja en el error experimental. Estos resultados resaltan la importancia del factor sacarosa y su interacción con el tipo de té en la determinación del pH en el licor de kombucha, proporcionando conclusiones significativas para comprender la influencia de estos factores en las características de la bebida fermentada.

**Resultados de análisis de varianza para la variable dependiente: pH****Tabla 16** Análisis de varianza para pH

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
A: Tipo de té	,003	1	,003	,499	,496
B: Sacarosa	,053	2	,027	4,527	,040*
(AB): Tipo de té * Sacarosa	,062	2	,031	5,233	,028*
Replicas	3,333E-5	2	1,667E-5	,003	,997
Error experimental	,059	10	,006		
Total	149,995	18			

*Nota.* Los valores p marcados con (\*) indican una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), mientras que los marcados con (\*\*) señalan una diferencia altamente significativa ( $p < 0.001$ ).

Los resultados (Tabla 18) indican que todas las fuentes de variación evaluadas (Tipo de té, Sacarosa y la interacción entre el Tipo de té y la Sacarosa) presentan diferencias estadísticamente significativas en los grados Brix. Esto sugiere que tanto el tipo de té como la presencia de sacarosa, así como su interacción, tienen un impacto significativo en los niveles de grados Brix en la bebida de Kombucha. La falta de significancia en las réplicas y el error experimental indica que la variabilidad observada es consistente y no se debe a fluctuaciones aleatorias o errores sistemáticos en la recopilación de datos.

**Tabla 17** Variable dependiente grados brix°

Fuente de variación	Suma de cuadrados	GI	Media cuadrática	F	Sig.
A: Tipo de té	9,827	1	9,827	242,315	,000**
B: Sacarosa	195,214	2	97,607	2406,753	,000**
(AB): Tipo de té * Sacarosa	21,941	2	10,971	270,507	,000**
Replicas	,054	2	,027	,671	,533
Error experimental	,406	10	,041		
Total	2226,670	18			

Nota. Los valores p marcados con (\*) indican una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ), mientras que los marcados con (\*\*) señalan una diferencia altamente significativa ( $p < 0.001$ ).

#### **Resultados de la influencia del tipo de té (Factor A) sobre las características fisicoquímicas**

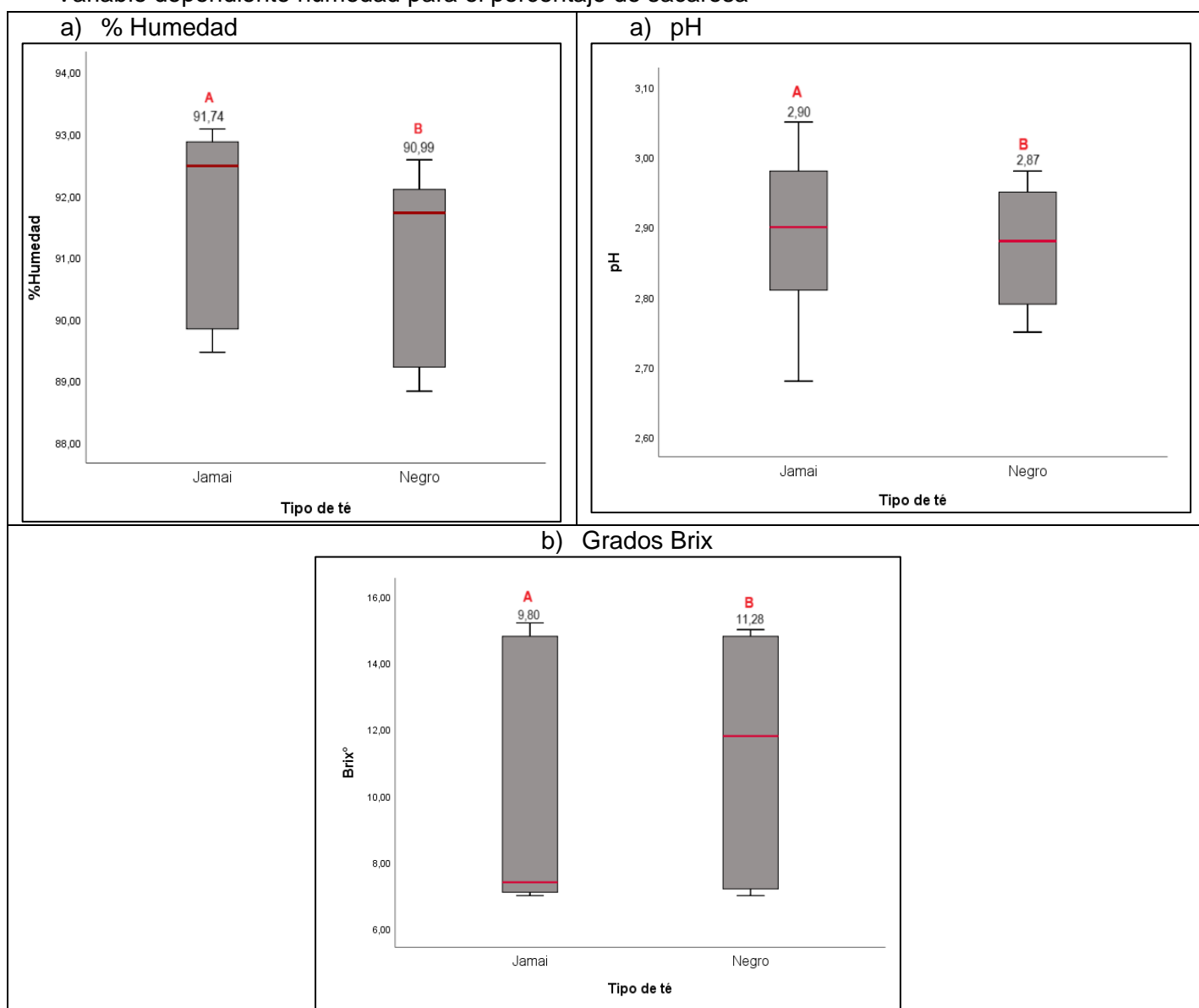
En la **Figura 10a**, los resultados muestran que el grupo A (variedad de té Jamaica) presentó un mayor contenido de humedad (91.74%) en comparación con el grupo B (té negro) (90.99%). Estos valores de humedad son consistentes con los reportados en otros estudios sobre celulosa bacteriana de kombucha. Esa et al. (2014) encontraron humedades entre 90-92% para películas de celulosa bacteriana producidas por *Gluconacetobacter xylinus*.

En cuanto al pH (**figura 10b**), el grupo A (té de Jamaica) presentó un pH ligeramente más bajo (2.90) en comparación con el grupo B (té negro) (2.87). Estos valores de pH ácidos son típicos en los cultivos de kombucha debido a la producción de ácidos orgánicos, como el ácido acético y glucónico, por parte de las bacterias ácido-acéticas (Jayabalan et al., 2014).

Los grados Brix (figura 10c) representan el contenido de sólidos solubles, principalmente azúcares, en una solución. El grupo A (té negro) presentó significativamente mayores niveles de grados Brix (11.2778) en comparación con el grupo B (té Jamaica) (9.8). Esta diferencia podría atribuirse a una mayor concentración inicial de azúcares en el té negro o a una mayor tasa de consumo de azúcares por parte de los microorganismos en el cultivo de té de Jamaica (Villareal et al.,2018).

**Figura 10** Resultados de las variables fisicoquímicas obtenidas del factor A (tipo de té)

Variable dependiente humedad para el porcentaje de sacarosa

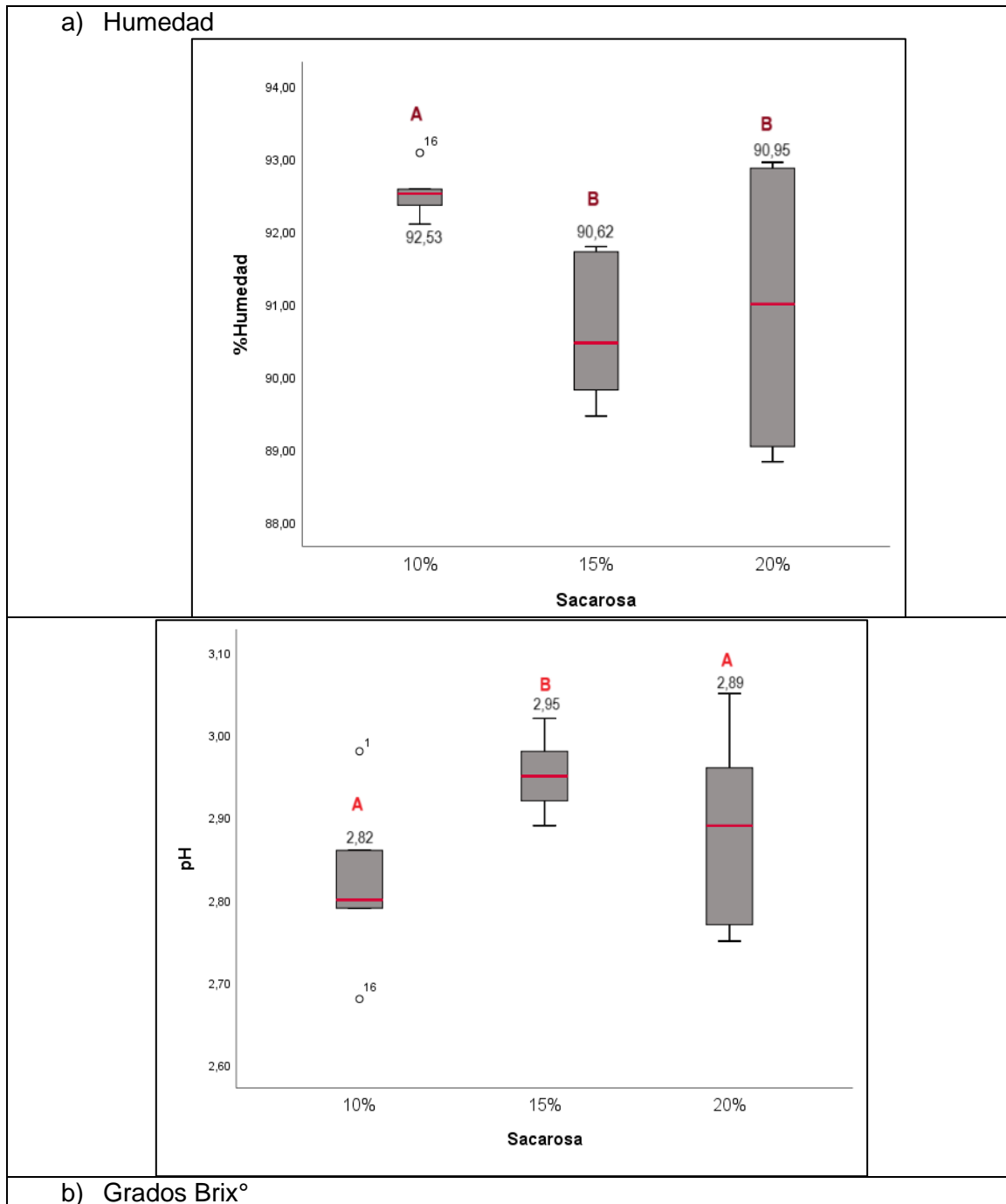


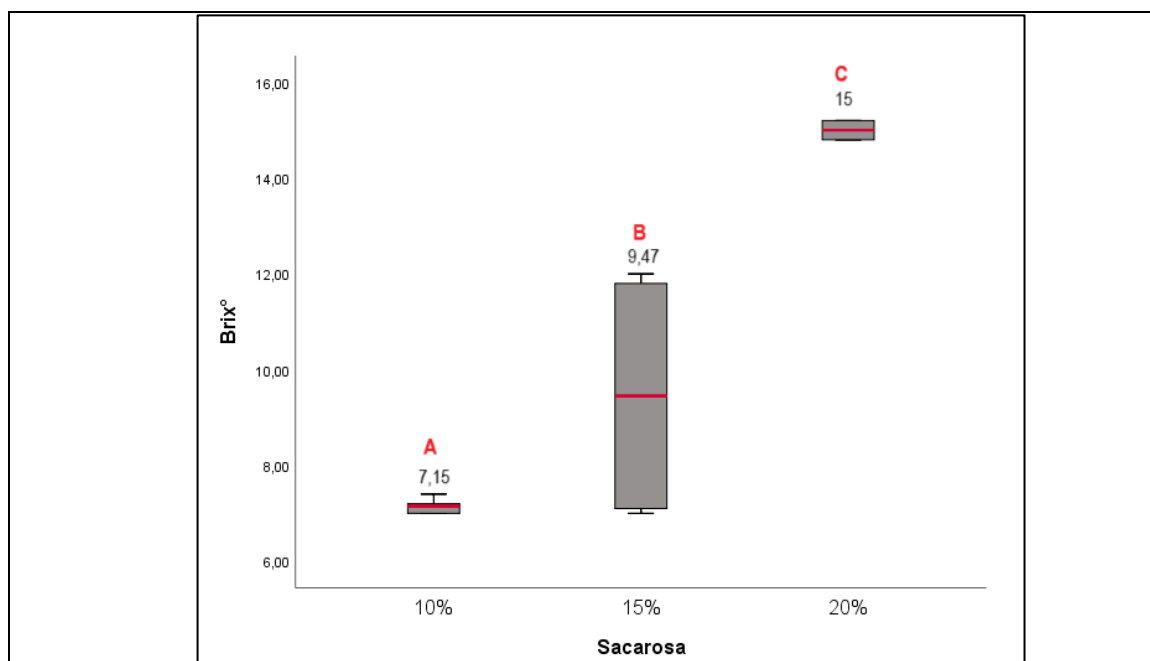
**Resultados de la influencia del porcentaje de sacarosa (Factor B) sobre las características fisicoquímicas**

En la figura 11a, los resultados muestran que el grupo A (10% de sacarosa) presentó el mayor porcentaje de humedad (92.53%), mientras que los grupos B (15% y 20% de sacarosa) exhibieron valores inferiores 90.62% y 90.95%, respectivamente. Estos hallazgos son consistentes con lo reportado por Rani y Menon (2019), quienes encontraron que la humedad de las películas de celulosa bacteriana disminuía a medida que aumentaba la concentración de sacarosa en el medio de cultivo.

En cuanto al pH (figura 11b), el grupo A (10% y 20% de sacarosa) mostró valores más bajos 2.82 y 2.89, respectivamente, indicando una mayor acidez, mientras que el grupo B (15% de sacarosa) presentó un pH ligeramente más alto 2.95. Estos resultados son coherentes con los hallazgos de Jayabalan et al. (2014), quienes mencionan que la producción de ácidos orgánicos durante la fermentación de la kombucha contribuye a la disminución del pH.

Los resultados muestran diferencias significativas en los grados Brix (figura 11c) (contenido de sólidos solubles) entre los grupos. El grupo A (20% de sacarosa) presentó la mayor media 15.0, seguido por el grupo B (15% de sacarosa) con 9.46667 y el grupo C (10% de sacarosa) con 7.15. Estos hallazgos son consistentes con lo esperado, ya que una mayor concentración de sacarosa en el medio de cultivo conduce a un mayor contenido de sólidos solubles, como lo reportado por Chakravorty et al. (2016).

**Figura 11** Resultados de las variables fisicoquímicas obtenidas del factor B



***Resultados de la influencia del tipo y la interacción con el porcentaje de sacarosa sobre las características fisicoquímicas***

En cuanto a la humedad (figura 12 a) se establecieron tres grupos heterogéneos, el grupo C (tratamiento Jamaica y 20%) presentó el nivel más alto de humedad, alcanzando 92.67%. Según Jayabalan et al. (2014), un alto contenido de humedad en la bebida de kombucha puede favorecer su conservación y prolongar su vida útil, ya que dificulta el crecimiento de microorganismos indeseables.

El grupo A (tratamiento té negro al 20%) exhibió el nivel más bajo de humedad, con 89.03%. Malbaša et al. (2011) mencionan que una humedad más baja podría afectar la estabilidad y la calidad sensorial del producto, al favorecer la cristalización de los azúcares. Estas diferencias en los niveles de humedad entre los tratamientos revelan variaciones en la retención de agua, lo que podría tener implicaciones importantes para el procesamiento y la conservación del producto, como sugieren los autores citados.

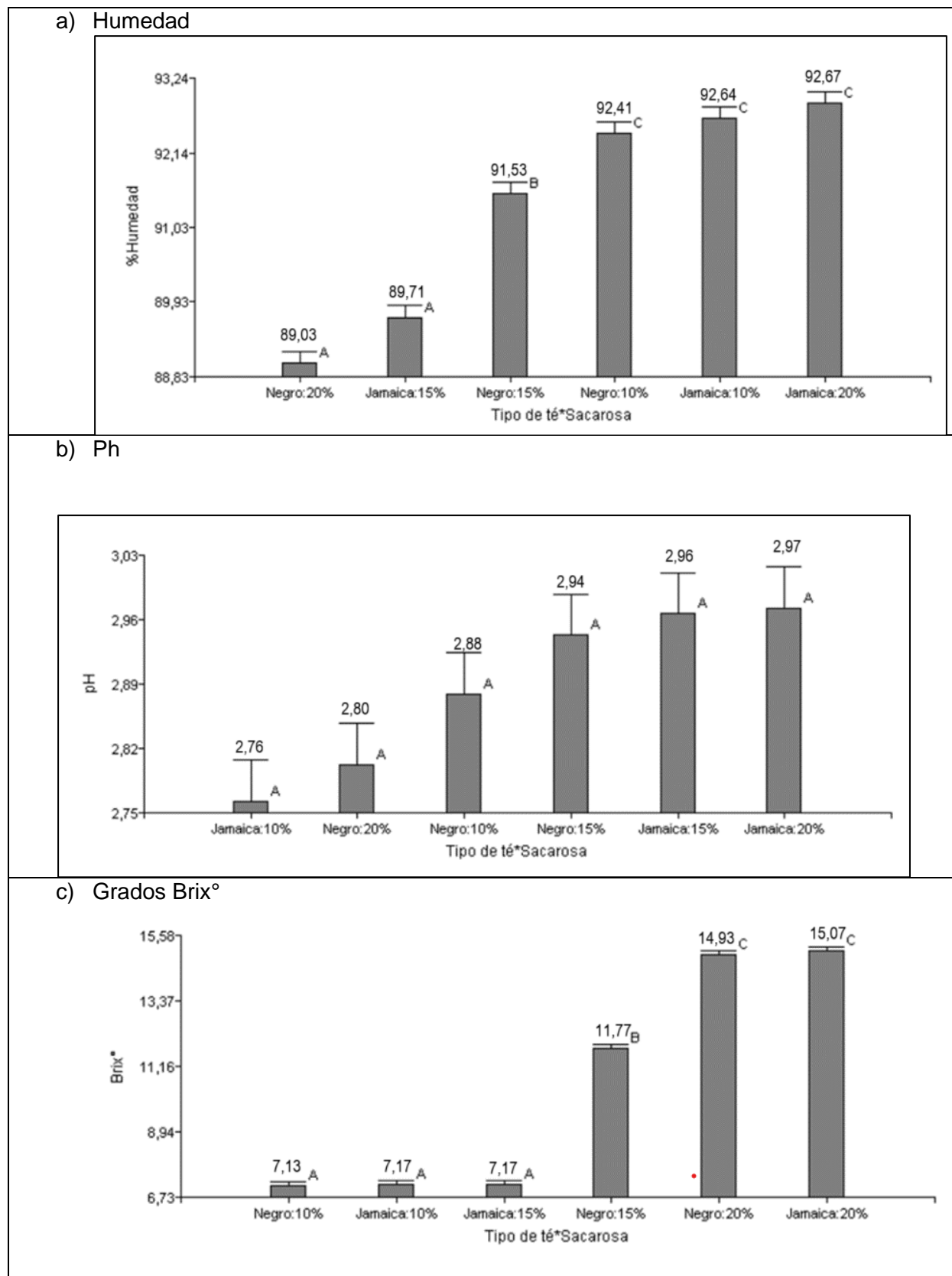
En la figura 12b, se estableció un único grupo homogéneo (A) para el pH, el tratamiento Jamaica y 20% sobresalió con el nivel más alto registrado, alcanzando 2.97. Según Chakravorty et al. (2016), un pH más alto (cerca a la neutralidad) en la bebida de



kombucha puede favorecer la actividad de las bacterias ácido-acéticas, responsables de la producción de ácido acético, revelando una tendencia hacia la acidez. Lončar et al. (2006) indican que un pH más bajo puede inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos y prolongar la vida útil del producto.

En la figura 12c, se establecieron 3 grupos independientes para los grados Brix. El grupo C (tratamiento Jamaica y 20%) destacó con el nivel más elevado, registrando 15.07°. Según Vitas et al. (2018), un alto contenido de sólidos solubles (grados Brix) en la bebida de kombucha puede estar relacionado con una mayor concentración de azúcares residuales, lo que influye en el sabor dulce del producto. El grupo A (tratamiento té negro y 10%) mostró el nivel más bajo de grados Brix, con 7.13°, lo que sugiere un menor contenido de azúcares y otros compuestos solubles, como se menciona en el texto.

**Figura 12** Resultados de la influencia de la interacción AxB sobre las características fisicoquímicas



**Tabla 18** Características Físico Químicas de la bebida de Kombucha según diferentes autores.

Tiempo de fermentación	Tipo de té	pH	Cenizas (%)	Brix°	Acidez	Etanol (%)	Autor
7 días	Té negro	3,4	0,14	32,01	0,38	-	(Lescano, 2015).
14 días	Té negro	3,45	1,21	5,79	2,84	0,5	(Robles, 2011)
15 días	Té negro	3,25	3,23	20,03	-	1	(Jiménez et al., 2021)
10 días	Té negro	3,03	-	11,7	3,96	0,95	(Vargas & Vargas, 2011)

*Nota.* Elaboración propia

En cuanto al pH, los valores de la figura 12b. varían entre 2,76 y 2,97, mientras que, en la Tabla 19., los autores reportan valores de pH más altos, entre 3,03 y 3,45, para el té negro en diferentes tiempos de fermentación.

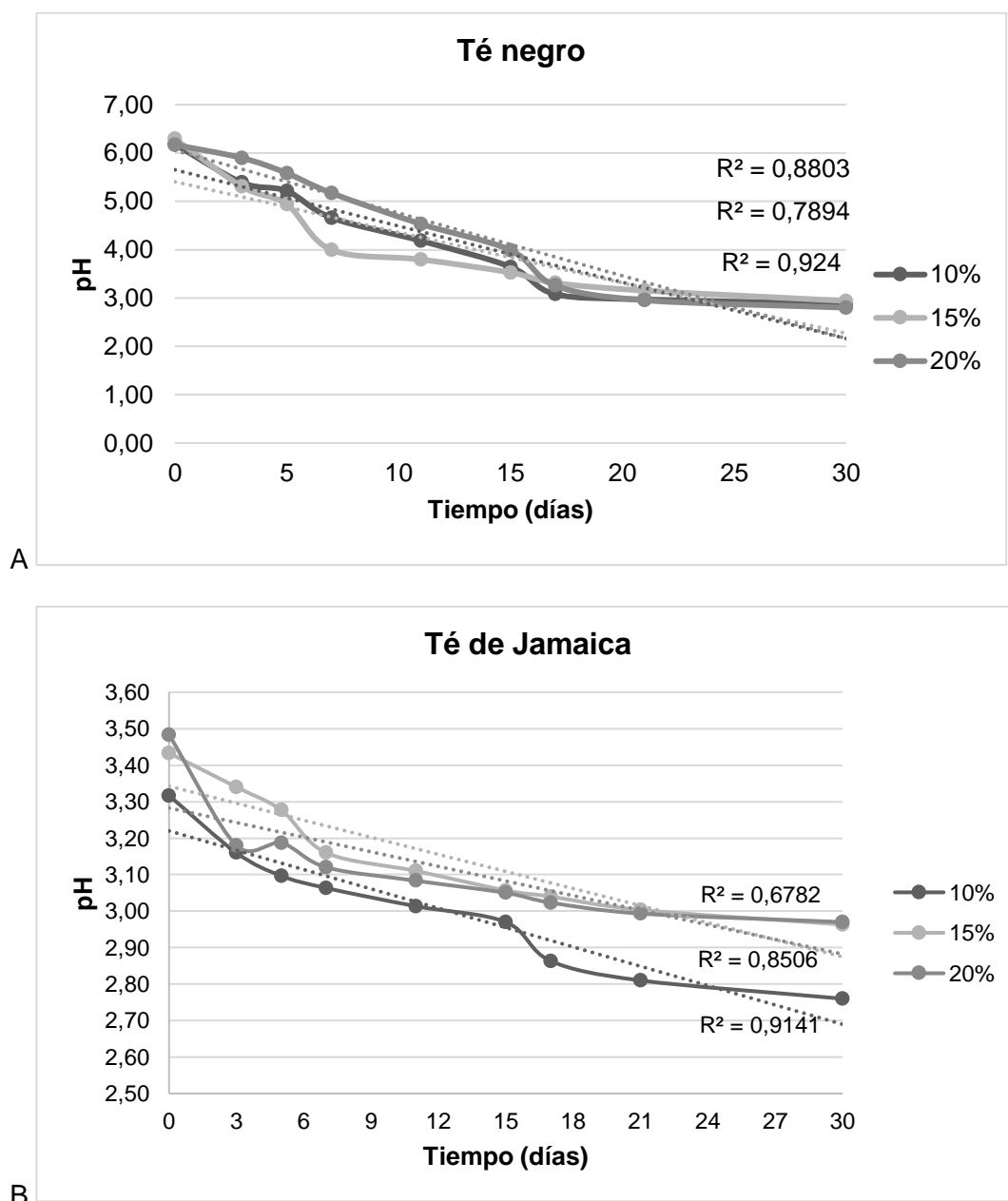
Respecto a los grados Brix, la figura 13c muestra valores de 7,13° a 15,07°, mientras que en la Tabla 19, se reportan valores más amplios, desde 5,79° hasta 32,01°, dependiendo del autor y el tiempo de fermentación.

Es importante destacar que los datos de la Tabla 19 provienen de estudios realizados por diferentes autores, lo que podría explicar las variaciones en los valores obtenidos. Estas diferencias podrían deberse a factores como la variedad de té utilizada, las condiciones de fermentación, el tiempo de fermentación, entre otros.

## Proceso fermentativo de la Kombucha

Se realizaron gráficos de dispersión de los variables: pH, grados brix y peso en húmedo de la bebida fermentada, con el fin de determinar la correlación entre las variables con respecto al paso del tiempo.

**Figura 10** Diagramas de dispersión para la variable pH a distintas concentraciones de sacarosa



Nota. Elaboración propia

Los coeficientes de determinación (Figura 10) revelan la relación entre el tiempo y el pH en las muestras de té negro y té de Jamaica fermentadas con diferentes concentraciones de sacarosa. Estos coeficientes indican cuánta variabilidad en el pH puede ser atribuida al tiempo, considerando las distintas condiciones de fermentación.

Para el té negro (Figura 10A) con una concentración de 10% sacarosa el 88,03% de la variabilidad en el pH puede ser explicada por el tiempo. Para las concentraciones del 15% y 20% de sacarosa, estos porcentajes son 78,94% y 92,40%, respectivamente. Por otro lado, en el caso del té de Jamaica (Figura 10B), se observa que el 91,41% de la variabilidad en el pH es predicha por el tiempo para una concentración del 10% de sacarosa, mientras que para el 15% y 20% de sacarosa, los porcentajes disminuyen a 85,06% y 67,82%, respectivamente.

Dado que el valor de  $R^2$  es positivo y cercano a 1 existe una alta correlación entre las variables, siendo esta correlación inversamente proporcional. Es decir, a medida que continúa el proceso de fermentación, el pH disminuye con el paso del tiempo hasta el punto de corte, sin disminuir de un pH 2,50.

Para el té negro al momento de la inoculación inició con un pH de  $6,18 \pm 0,06$  con una progresión rápida de disminución hasta el día 7 ( $\text{pH} = 4,66 \pm 0,59$ ), y después una disminución lenta hasta el día 30 ( $\text{pH} = 2,88 \pm 0,07$ ).

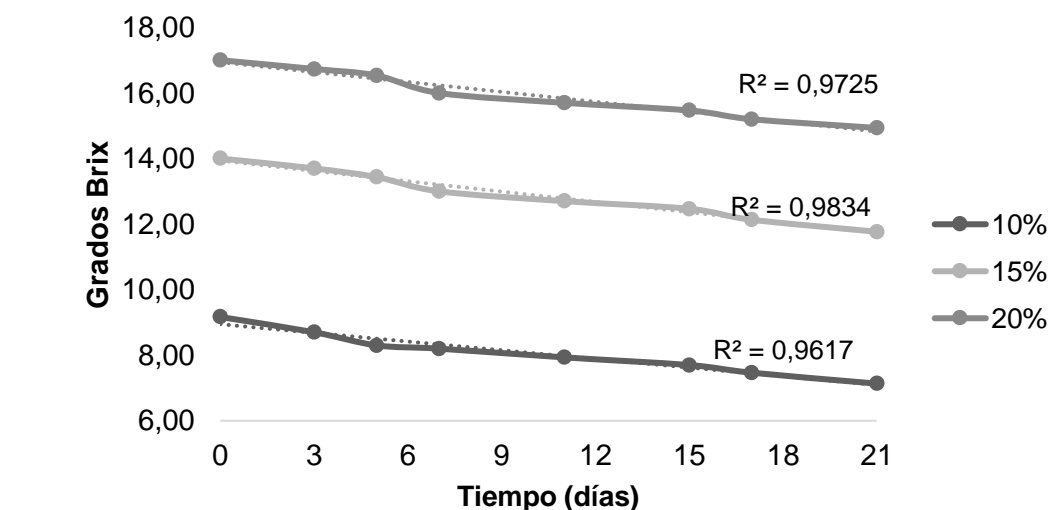
El pH del té de Jamaica es bastante ácido desde un inicio con un valor de  $3,43 \pm 0,086$  sufriendo una disminución lenta del pH durante todo el proceso fermentativo, en el día 7 el pH estuvo en  $3,12 \pm 0,050$  hasta llegar al día 30 con un pH de  $2,96 \pm 0,119$ .

El pH es un elemento fundamental en el proceso de fermentación de la kombucha, constituyéndose como un indicador clave del avance y la calidad del producto final (Vázquez Morales, 2021). El cambio es bastante notorio a pesar de las distintas concentraciones de sacarosa, esto se debe a la acción de las bacterias ácido-lácticas presentes en el SCOBY que convierten el alcohol transformado por las levaduras en distintos ácidos los cuales reducen el pH de la mezcla hasta alcanzar el nivel de sabor y acidez deseado (Laureys et al., 2020).

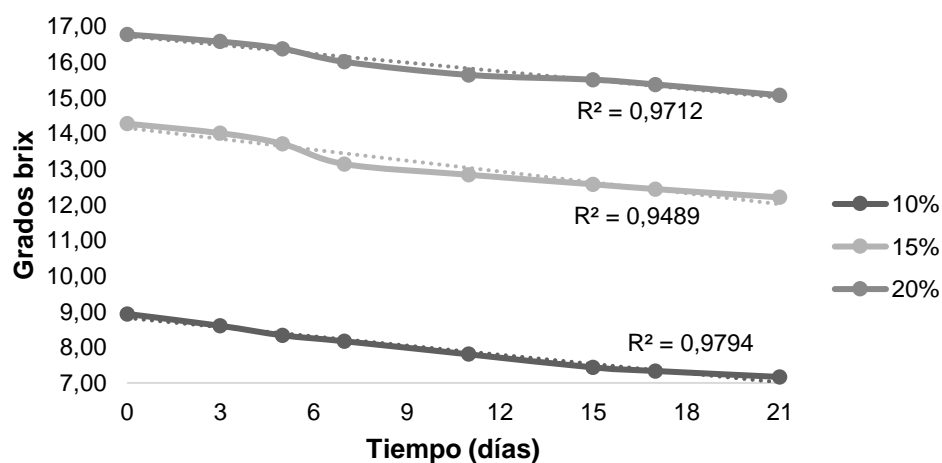
El valor de pH más bajo aceptable no debe descender por debajo de 3, que es del tracto digestivo, puesto que para su consumo no sería muy agradable (Villarreal Soto et al., 2018). Además, se garantiza la seguridad alimentaria cuando el alimento alcanza un pH 4,6 ya que las bacterias dañinas no podrían sobrevivir ni proliferar en esas condiciones (Hammel et al., 2016). El valor de pH de la kombucha oscila entre 2,5 y 3,5, un pH inferior a 2,5 indica un mayor agotamiento de sacarosa y la posibilidad de un aumento de las concentraciones de etanol (Cohen et al., 2023).

Vázquez Morales, (2021) evaluó el pH de distintas infusiones herbales incluidos el té negro y flor de Jamaica obteniéndose datos consistentes a los encontrados en el presente estudio, siendo también la flor de Jamaica la bebida con los valores más bajos de pH. Dado que los valores de pH de las bebidas fermentadas no disminuyeron del rango mínimo citado en la bibliografía se considera que el proceso de fermentación fue exitoso y que las condiciones microbiológicas se mantuvieron dentro de los límites aceptables para la seguridad alimentaria.

**Figura 11** Diagramas de dispersión para la variable grados Brix a distintas concentraciones de sacarosa



A



B

*Nota.* Elaboración propia

Los coeficientes de determinación arrojados dentro del análisis de los grados brix con respecto al tiempo indican que para el té negro (Figura 11A) con una concentración de sacarosa del 10%, el 96.17% de la variabilidad en la variable dependiente es explicada por la variable independiente. Para concentraciones del 15% y 20% de sacarosa, estos porcentajes son del 98.34% y 97.25%, respectivamente. En el caso del té de Jamaica (Figura 11B), con una concentración del 10% de sacarosa, el 97.24% de los datos de pH

son predichos por la variable independiente. Para concentraciones del 15% y 20% de sacarosa, estos porcentajes son del 94.89% y 97.12%, respectivamente.

Se presenta una fuerte correlación entre las variables, siendo inversamente proporcional. Es decir, con el transcurso de los días, los grados brix (concentración de solutos, principalmente sacarosa) disminuyen con el paso del tiempo hasta el punto de corte de fermentación.

Los resultados de los grados brix poseen una correlación más robusta en comparación con el pH, dado que los grados brix miden la cantidad de soluto presente en la disolución (en este caso sacarosa). La cantidad inicial vendrá determinada por la concentración inicial con la que se realizó la inoculación, se aprecia el consumo de la sacarosa por parte de los microorganismos presentes en la bebida. Siendo similares la disminución de grados brix tanto en el té negro como en el de Flor de Jamaica a las distintas concentraciones de sacarosa.

En cuanto a las mediciones específicas, para el té negro al 10% inició con una cantidad de solutos disueltos de 9,17 g y terminó al día 21 con una cantidad de 7,13 g con un valor de 2,03 g de sacarosa consumida durante la fermentación. Al 15% el consumo de sacarosa fue de 2,23 g mientras que al 20% la cantidad de consumo fue 2,07 g. Para el té de Jamaica al 10% inició con una cantidad de solutos disueltos de 8,93 g y terminó al día 21 con una cantidad de 7,17 g con valor de 1,77 g de sacarosa consumida durante la fermentación. Al 15% el consumo de sacarosa fue de 2,07 g mientras que al 20% la cantidad de consumo fue 1,07 g.

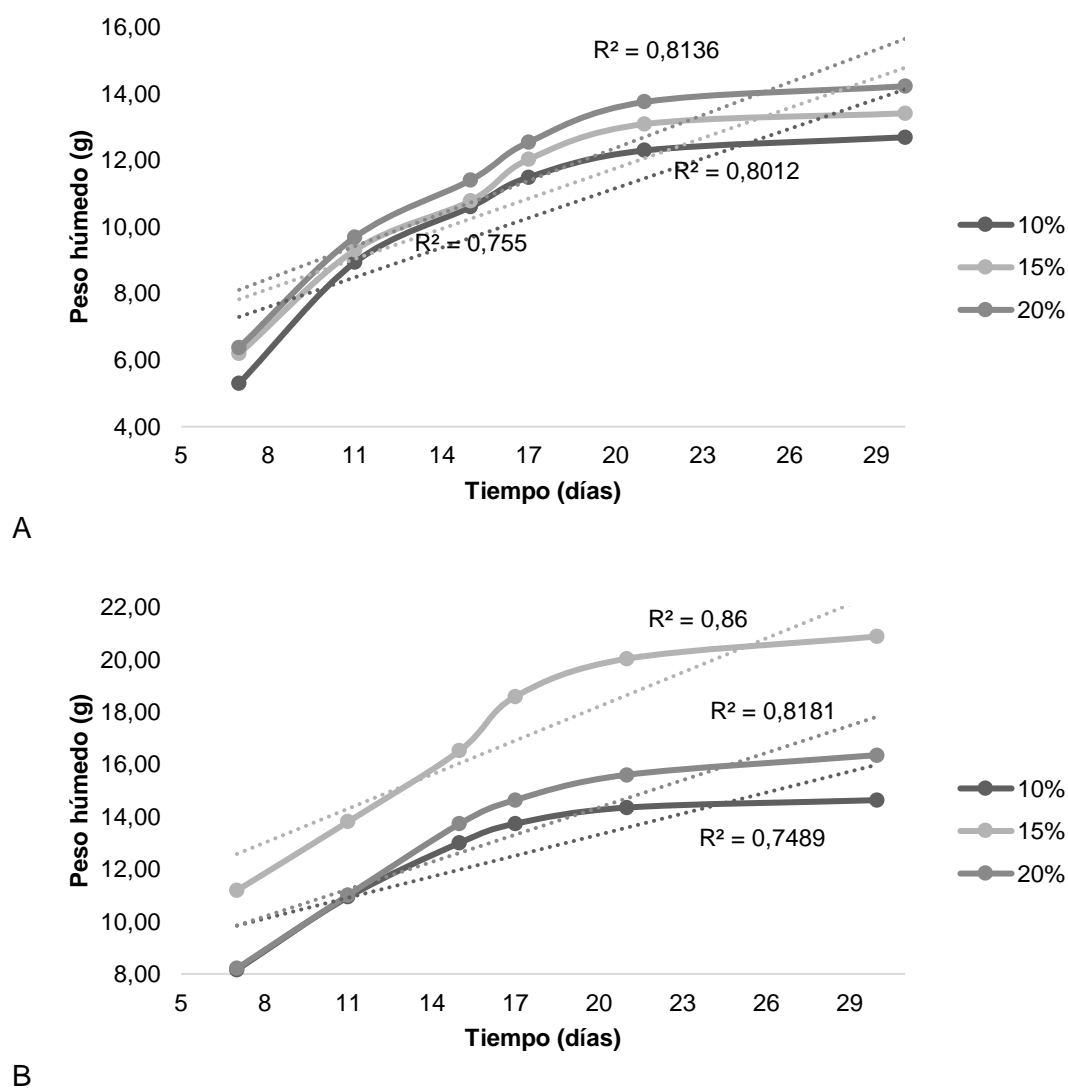
La Kombucha generalmente se prepara con una disolución de 50 a 100 g de sacarosa por litro de agua hirviendo (Laureys et al., 2020), lo que corresponde a las concentraciones de 10% y 15% evaluadas en el presente estudio. A modo general, se aprecia una disminución paulatina de los grados brix, esta tendencia es consistente con los estudios de (Cueva Ruano, 2019; Fernández & Muñoz, 2022), donde los procesos de fermentación de las diferentes bebidas disminuyen los grados brix por el consumo de los microorganismos.



A su vez, se aprecia diferencias entre el té negro y el té de Jamaica, en todas las concentraciones, esta diferencia se debe al pH del medio, dado que el té de Jamaica es más ácido que el té negro, los microorganismos inoculados tuvieron que adaptarse al nuevo pH del medio antes de consumir la sacarosa diluida presente en la solución. Adicional, es bastante conocido que al inicio del proceso las levaduras del consorcio primero hidrolizan la sacarosa en glucosa y fructosa, lo que también explicaría su lento consumo (Dantas Coelho et al., 2020). El género de *Saccharomyces* tiene preferencia por la glucosa y su rango de pH óptimo es de 4-5 aunque también es capaz de adaptarse a medios más ácidos (Aguilar Uscanga et al., 2005; Dantas Coelho et al., 2020), mientras que el género de *Zygosaccharomyces* tiene preferencia por la fructosa y es más tolerante a la acidez siendo capaz de crecer en pH hasta de 2,2 (Torres Palazzolo, 2015).

(Cohen et al., 2023) realizaron un estudio donde evaluaron el pH, grados brix y la acidez titulable como variables para determinar el perfil sensorial del té, aunque en sus resultados la medida de grados brix no variaron significativamente para el periodo evaluado (11 días); en el presente estudio se apreciaron resultados similares, con poca variación principalmente en la concentración de 20% con el paso del tiempo, esto puede indicar que las concentraciones iniciales de sacarosa excedieron las necesidades microbianas durante el proceso de fermentación (Cohen et al., 2023).

**Figura 12** Diagramas de dispersión para la variable *Peso del biofilm a distintas concentraciones de sacarosa*



*Nota.* Elaboración propia

Los análisis de los coeficientes de determinación revelan que, en el caso del té negro (Figura 21A), con una concentración del 10% de sacarosa, el 75.50% de la variabilidad en los grados brix puede ser predicha por el tiempo. Para concentraciones del 15% y 20% de sacarosa, estos porcentajes son del 80.12% y 81.36%, respectivamente. En cuanto al té de Jamaica (Figura 21B), a una concentración del 10% de sacarosa, el 74.89% de los datos de pH son predichos por el tiempo. Para concentraciones del 15% y 20% de sacarosa, estos porcentajes son del 86% y 81.81%, respectivamente.

Estos resultados indican una fuerte correlación entre las variables, siendo esta correlación directamente proporcional. Es decir, a medida que avanza el proceso de fermentación, la producción de biofilm aumenta con el tiempo hasta alcanzar un punto crítico.

La medición del peso del biofilm producido se tomó desde el día 7, donde se apreció una cantidad considerable para medir. La progresión de biofilm producido fue lenta en un inicio (días 0 al 7), y fue aumentando paulatinamente cada 7 días tanto para la infusión de té negro como para la de Jamaica, para la última semana (días 21 al 30) la cantidad de biofilm producida se mantiene relativamente constante. De todas las concentraciones de sacarosa en el té negro al 20% se obtuvo los mejores resultados, obteniéndose 14,22 g/L al día 30, mientras que, en el té de Jamaica, la mejor producción se obtuvo al 15% con 20,88 g/L producidos a los 30 días.

Estos resultados son congruentes con estudios similares. Por ejemplo, (García Llor, 2022) realizó el peso de la celulosa bacteriana obtenida de kombucha de té negro y otros sustratos a partir del día 11 con mediciones en el día 17 y 24 en un volumen de 3 L de producción obteniendo 89,50 g al día de corte. (Hamed et al., 2022) y tuvieron el mayor rendimiento de crecimiento con 0,2% de té negro y 6,0% de sacarosa con resultados de 47,7% y 46,1% respectivamente.

### **Características físicas de la celulosa**

Las características físicas de la celulosa obtenida se presentan en la tabla X. Dado que la fermentación se produjo en frascos pequeños en un 1L de volumen (ver anexos), las dimensiones de la kombucha adquieren principalmente la forma del recipiente, es decir, un círculo.

La masa final de la celulosa escogida fue de 0,96 g con un espesor de 0,04 cm y un radio de 3,3 cm. La densidad de la celulosa fue de 0,7015 g/cm<sup>3</sup> siendo relativamente baja, un indicio de que la celulosa obtenida presenta una estructura porosa y ligera.

**Tabla 19** Características físicas de la celulosa obtenida

Dimensiones		
Radio	3,3	Cm
Masa	0,96	G
Espesor	0,04	Cm
Volumen	1,368	cm <sup>3</sup>
Densidad	0,7015	g/cm <sup>3</sup>

*Nota.* Elaboración propia

### Características del bioplástico y papel

De acuerdo con los resultados obtenidos en la tabla 21, la densidad según la norma ISO 534:2011 para papel y cartón, la densidad típica para papeles de escritura e impresión oscila entre 0.6 y 1.2 g/cm<sup>3</sup>. Los valores de densidad obtenidos para el papel de té negro (0.730 g/cm<sup>3</sup>) y té de Jamaica (0.836 g/cm<sup>3</sup>) se encuentran dentro del rango establecido por la norma.

Para los bioplásticos, no existe una norma específica ampliamente aceptada. Sin embargo, los valores de densidad obtenidos (1.000 g/cm<sup>3</sup> para té negro y 1.030 g/cm<sup>3</sup> para té de Jamaica) se encuentran dentro del rango típico para bioplásticos y polímeros naturales, que suele estar entre 0.5 y 1.5 g/cm<sup>3</sup> (Jamshidian et al., 2010).

La dureza, es una propiedad relevante para aplicaciones donde se requiere resistencia a la deformación y al rayado, y aunque no se encontraron normas específicas que establezcan valores mínimos de dureza para papel o bioplásticos. Los valores de dureza obtenidos (0.148-0.172 kg/cm<sup>2</sup>) son coherentes con los rangos esperados para materiales poliméricos naturales y bioplásticos (Auras et al., 2004).

**Tabla 20** Análisis del bioplástico y papel obtenido de la kombucha considerando el tipo de té

Dimensiones	Bioplástico		Papel		Unidad
	Té negro	Te de Jamaica	Té negro	Té de Jamaica	
Ancho	8	8	8	8	Cm
Largo	12	12	12	12	Cm
Masa	6.72	6.43	6.31	6.82	G
Espesor	0.07	0.065	0.09	0.085	Cm
Volumen	6.72	6.24	8.64	8.16	cm <sup>3</sup>
Densidad	1.000	1.030	0.730	0.836	g/cm <sup>3</sup>
Dureza	0.168	0.172	0.148	0.164	kg/cm <sup>2</sup>

Nota. Elaboración propia

Los valores de densidad y dureza obtenidos tanto para el bioplástico como para el papel se encuentran dentro de los rangos típicos y cumplen con los estándares mínimos aplicables. Sin embargo, es importante considerar otras propiedades relevantes, como la resistencia mecánica, la permeabilidad, la biodegradabilidad y la estabilidad térmica, según los requisitos específicos de la aplicación prevista.

Los valores de elasticidad reportados (tabla 21) para los bioplásticos de kombucha (0.587-0.674 GPa) son consistentes con los rangos típicos para biopolímeros y materiales celulósicos. Según Azeredo et al. (2019), los bioplásticos a base de celulosa suelen tener módulos de elasticidad entre 0.2 y 10 GPa, dependiendo de su cristalinidad y orientación de las fibras (Azeredo et al.,2019).

La solubilidad limitada observada en los bioplásticos y papeles de kombucha es una característica deseable para aplicaciones de envasado y recubrimiento. Según Villarreal-Soto et al. (2018), la celulosa bacteriana producida por el cultivo de kombucha es insoluble en agua y la mayoría de los disolventes orgánicos, lo que le confiere una excelente resistencia a la degradación en medios acuosos.

Los valores de humedad reportados (10.65-11.54%) son similares a los encontrados en otros estudios con bioplásticos de celulosa bacteriana. Esa et al. (2014) reportaron humedades entre 10-12% para películas de celulosa bacteriana de *Gluconacetobacter xylinus*.

Los valores de pH ligeramente ácidos (5.43-6.45) son característicos de los bioplásticos y papeles de kombucha, debido a la presencia de ácidos orgánicos producidos durante la fermentación. Según Jayabalan et al. (2014), los principales ácidos presentes en la kombucha son el ácido acético, glucónico y láctico, los cuales contribuyen a su pH ácido.

## Capítulo IV

### Conclusiones

Se obtuvo y se caracterizó físicamente la celulosa producida por la fermentación de kombucha a partir de té negro y Flor de Jamaica a distintas concentraciones (5%, 10% y 15%), determinándose que la producción de celulosa está influenciada por el tipo de té con el que se realice y la cantidad de sustrato inicial, por lo que se acepta la hipótesis alternativa para el factor A y factor B, así como en la interacción A\*B, ya que influyen en la obtención de la celulosa deseada.

#### Tipo de té

En relación con el factor A, que corresponde al tipo de té utilizado, se evidenció una notable influencia en las variables analizadas, incluyendo el pH, los grados Brix y el porcentaje de humedad. Específicamente, se observó que el té de Jamaica exhibió un pH más ácido después de 30 días de fermentación en comparación con el té negro. Además, se constató un mayor consumo de sacarosa en el té de Jamaica en contraste con el té negro, lo cual se reflejó en una diferencia significativa en los grados Brix. Asimismo, el té de Jamaica mostró un porcentaje de humedad superior en relación con el té negro. Estos resultados subrayan la importancia del tipo de té en la composición y características finales de la bebida fermentada, destacando diferencias significativas en el proceso de fermentación y en los atributos organolépticos del producto.

#### Tipo de concentraciones

Con respecto al factor B, concentración de sacarosa, se evidenció una gran influencia en las variables analizadas de pH, grados brix y porcentaje de humedad. A una mayor concentración de sacarosa (20 %) se obtiene menor porcentaje de humedad en las muestras, por lo que se infiere que la celulosa obtenida es menos poroso y delgada. Sobre el pH se apreció que las concentraciones más altas de sacarosa resultan en un pH más bajo en el producto final de kombucha. Este fenómeno está en línea con la producción de ácidos orgánicos durante la fermentación, lo que contribuye a la acidificación del medio y a

la disminución del pH. Finalmente, sobre los grados brix, se observa que la concentración de sacarosa en el medio de cultivo está directamente relacionada con el contenido de sólidos solubles en la bebida fermentada. A medida que aumenta la concentración de sacarosa, se incrementa el contenido de sólidos solubles, lo cual es coherente con la relación entre la concentración de sacarosa y la presencia de azúcares solubles en la solución.

#### Interacciones

Con respecto a los tratamientos de kombucha con diferentes variedades de té y concentraciones de sacarosa revelan diferencias significativas en cuanto a la humedad, el pH y los grados Brix, lo que sugiere distintas características y calidad en el producto final. En términos de humedad, se observa que el tratamiento con té Jamaica y 20% de sacarosa exhibió el nivel más alto, indicando una mayor retención de agua en comparación con otros tratamientos. Por otro lado, el tratamiento con té negro al 20% mostró el nivel más bajo de humedad, lo que sugiere una menor cantidad de agua en la muestra. Estas variaciones en la humedad entre los tratamientos pueden tener implicaciones importantes para el procesamiento y la conservación del producto.

Se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con respecto al pH, siendo el tratamiento de té Jamaica y 20% de sacarosa el que mostró el nivel más alto y el tratamiento de té Jamaica y 10% exhibiendo el pH más bajo. Estas variaciones sugieren una influencia significativa de la composición química en la acidez o alcalinidad del producto final, lo que podría afectar su perfil de sabor y calidad. No obstante, ninguno de los tratamientos estuvo por debajo del límite (2,5), valor que se encuentra dentro de la normativa INEN para bebidas no carbonatadas. Por último, en relación con los grados Brix, se observaron discrepancias significativas entre los tratamientos, con el tratamiento de té Jamaica y 20% de sacarosa mostrando el nivel más elevado y el tratamiento de té negro y 10% exhibiendo el nivel más bajo. Estas diferencias reflejan variaciones importantes en la concentración de compuestos solubles, lo que podría influir en el sabor y la calidad del producto final.



### Correlación del tiempo con el comportamiento de las variables

Los análisis detallados de las variables clave en la fermentación de kombucha, teniendo en cuenta tanto el tipo de té como la concentración de sacarosa, arrojan resultados significativos que delinear la progresión de la fermentación y sus implicaciones en la calidad del producto final. En cuanto al pH, se evidenció una correlación inversamente proporcional con el tiempo en ambas variedades de té y todas las concentraciones de sacarosa evaluadas. Por ejemplo, el té de Jamaica, con su característico pH inicial más ácido, mostró una disminución más lenta en comparación con el té negro. Durante la fermentación, el pH del té negro disminuyó desde un valor inicial de  $6,18 \pm 0,06$  hasta  $2,88 \pm 0,07$  en el día 30, mientras que el pH del té de Jamaica disminuyó de  $3,43 \pm 0,086$  a  $2,96 \pm 0,119$  en el mismo período.

Por otro lado, los grados Brix, que reflejan la concentración de solutos en la solución, exhibieron una fuerte correlación directamente proporcional con el tiempo. Se observó una disminución constante en los grados Brix a medida que avanzaba la fermentación, lo que indica un consumo gradual de sacarosa por parte de los microorganismos presentes en la bebida. Por ejemplo, para el té negro al 10% de sacarosa, la cantidad de sacarosa consumida durante la fermentación fue de 2,03 g, mientras que para el té de Jamaica al 10%, la cantidad fue de 1,77 g.

En cuanto al peso del biofilm producido, se registró un aumento gradual a lo largo del tiempo, con una producción máxima generalmente alcanzada hacia el día 30 de fermentación. Las concentraciones de sacarosa y el tipo de té influyeron en la cantidad y calidad del biofilm producido. Por ejemplo, para el té de Jamaica, la mejor producción se obtuvo al 15% de sacarosa, con 20,88 g/L producidos a los 30 días.

### Características del papel y bioplástico.

Dentro de las características físicas de la celulosa producida, se apreció una densidad inferior a la del agua  $0,7015 \text{ g/cm}^3$  un indicio de que la celulosa obtenida puede presentar una estructura porosa y ligera, características deseables en diversas industrias. Además, la laminilla fue bastante delgada (espesor de 0,04 cm) con un diámetro de 3,3 cm.

Se logró obtener dos productos biodegradables a partir de la celulosa de la kombucha: papel y bioplástico. Los valores de densidad obtenidos para el papel de té negro ( $0.730 \text{ g/cm}^3$ ) y té de Jamaica ( $0.836 \text{ g/cm}^3$ ) se encuentran dentro del rango establecido por la norma, lo que demuestra su aplicación para la producción de papel. En cuanto al bioplástico; los valores de densidad, dureza y elasticidad obtenidos se encuentran dentro de los rangos típicos y cumplen con los estándares mínimos aplicables, siendo estos parámetros importantes para la durabilidad y uso cotidiano que se espera como envases.

Los resultados obtenidos para la densidad, dureza, elasticidad, solubilidad, humedad y pH de los bioplásticos y papeles de kombucha están en línea con los estándares y características esperadas para estos materiales.

Tanto la densidad del papel ( $0.730 \text{ g/cm}^3$  para té negro y  $0.836 \text{ g/cm}^3$  para té de Jamaica) como la de los bioplásticos ( $1.000 \text{ g/cm}^3$  para té negro y  $1.030 \text{ g/cm}^3$  para té de Jamaica) se encuentran dentro de los rangos típicos establecidos para papeles y bioplásticos naturales. Asimismo, los valores de dureza ( $0.148\text{-}0.172 \text{ kg/cm}^2$ ) son coherentes con los esperados para materiales poliméricos naturales y bioplásticos.

En cuanto a la elasticidad, los bioplásticos de kombucha exhiben valores ( $0.587\text{-}0.674 \text{ GPa}$ ) que se sitúan dentro de los rangos típicos para biopolímeros y materiales celulósicos, según estudios previos.

La solubilidad limitada en agua y la resistencia a la degradación en medios acuosos son características deseables para aplicaciones de envasado y recubrimiento, y los bioplásticos y papeles de kombucha muestran esta propiedad, siendo insolubles en agua y la mayoría de los disolventes orgánicos.

Los valores de humedad ( $10.65\text{-}11.54\%$ ) y pH ligeramente ácidos ( $5.43\text{-}6.45$ ) son consistentes con los encontrados en otros estudios sobre bioplásticos de celulosa bacteriana, lo que indica una fermentación adecuada y una composición química característica de la kombucha.

En conjunto, estos resultados respaldan la viabilidad y versatilidad de los bioplásticos y papeles de kombucha como alternativas sostenibles y funcionales en diversas

aplicaciones, desde envasado hasta recubrimiento, manteniendo estándares de calidad y características adecuadas para su uso en la industria.

### **Recomendaciones**

#### Tipo de Té

Los resultados sugieren que el tipo de té utilizado influye significativamente en las características finales de la bebida fermentada. Se recomienda considerar cuidadosamente la elección del tipo de té según las preferencias organolépticas deseadas y las especificaciones del producto final. Además, es importante realizar pruebas y ajustes en función del tipo de té seleccionado para optimizar el proceso de fermentación y garantizar la calidad del producto.

#### Tipo de Concentraciones

La concentración de sacarosa en la solución de fermentación tiene un impacto directo en el contenido de sólidos solubles, el pH y la humedad del producto final. Se sugiere realizar evaluaciones detalladas para determinar la concentración óptima de sacarosa que maximice la calidad y las características deseadas del producto. Además, es importante tener en cuenta las preferencias del mercado y las regulaciones aplicables al seleccionar la concentración de sacarosa adecuada para la producción de kombucha.

#### Interacciones

Las interacciones entre el tipo de té y la concentración de sacarosa pueden afectar significativamente las características finales del producto. Se recomienda realizar un análisis exhaustivo de estas interacciones para comprender mejor cómo afectan la calidad y las propiedades de la bebida fermentada. Esto puede requerir ajustes específicos en el proceso de fermentación para optimizar la producción y satisfacer los requisitos del mercado.

#### Correlación del Tiempo con el Comportamiento de las Variables

La correlación entre el tiempo y el comportamiento de las variables clave, como el pH y los grados Brix, es fundamental para comprender la progresión de la fermentación y

garantizar la consistencia en la calidad del producto. Se recomienda monitorear cuidadosamente estas variables durante todo el proceso de fermentación y realizar ajustes según sea necesario para mantener los estándares de calidad y cumplir con las especificaciones del producto final.

#### Características del Papel y Bioplástico

Los resultados obtenidos indican que el papel y el bioplástico derivado de la celulosa de kombucha cumplen con los estándares y características esperadas para estos materiales. Se sugiere explorar aún más el potencial de estos materiales en aplicaciones específicas, como envasado y recubrimiento, teniendo en cuenta su densidad, dureza, elasticidad, solubilidad, humedad y pH. Además, es importante continuar investigando y desarrollando nuevas tecnologías y procesos para mejorar la viabilidad y versatilidad de estos materiales en diversas industrias.

## Capítulo V

### Bibliografía

- Agatângelo, J. (2007). *Estudio del Comportamiento Cinético de Microorganismos de Interés en Seguridad Alimentaria con Modelos Matemáticos*. [Tesis Doctoral]. Universidad Autónoma de Barcelona.
- Aguilar Uscanga, B., Solis Pacheco, J., & François, J. (2005). Estudio de la variación de la composición de los polisacáridos contenidos en la pared celular de la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*. *e-Gnosis*(3), 0.
- Alves, A. A., Silva, W. E., Belian, M. F., Lins, L., & Galembeck, A. (2020). Bacterial cellulose membranes for environmental water remediation and industrial wastewater treatment. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 17, 3997-4008.
- Auras, R., Harte, B., & Selke, S. (2004). An overview of polylactides as packaging materials. *Macromolecular Bioscience*, 835-864. <https://doi.org/10.1002/mabi.200400043>
- Avellán, A., Díaz, D., & Mendoza, A. (2020). Obtención de bioplástico a partir de almidón de maíz (*Zea mays* L.). *Revista Colón Ciencias, Tecnología y Negocios*, 7(1), 1-11.
- Avérous, L., & Pollet, E. (2012). Biodegradable polymers. En *Environmental silicate nanobiocomposites* (págs. 13-39). *Springer London*.
- Banurea, A., Neamtu, I., Boghetich, G., Ghemeci, C., & Voncila, V. (2016). The influence of carbon source on bacterial cellulose biosynthesis. *European Journal of Science and Technology*, 12(2), 47-52.
- Billmeyer, f. (2015). *Ciencia de los polímeros*. Reverte.
- Blanco Parte, F. G., Santoso, S. P., Chou, C. C., Verma, V., Wang, H. T., Ismadji, S., & Cheng, K. C. (2020). Current progress on the production, modification, and applications of bacterial cellulose. *Critical reviews in biotechnology*, 40(3), 397-414.

- Bogdan, M., Justine, S., Filofteia, D. C., Petruta, C. C., Gabriela, L. U. Ț. Ȃ., Roxana, U. E., ... & Gabriela, L. (2018). Lactic acid bacteria strains isolated from Kombucha with potential probiotic effect. *Romanian Biotechnological Letters*, 23(3), 13592-13598.
- Bryszewska, M. A., Tabandeh, E., Jędrasik, J., Czarnecka, M., Dzierżanowska, J., & Ludwicka, K. (2023). SCOBY Cellulose Modified with Apple Powder-Biomaterial with Functional Characteristics. *International journal of molecular sciences*, 24(2), 1005. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms24021005>
- Bustos Cosios, C. (2017). Desarrollo de un método para recuento de *Listeria monocytogenes*. [Tesis de grado]. Universidad Técnica de Ambato, Ambato.
- Cabeza Herrera, E. (2013). Fundamentos de Microbiología Predictiva: aplicaciones teóricas y. Universidad de Pamplona.
- Campano, C., Balea, A., Blanco, A., Negro, C., 2016. Enhancement of the fermentation process and properties of bacterial cellulose: a review. *Cellulose* 23 (1), 57–91. <https://doi.org/10.1007/s10570-015-0802-0>.
- 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.
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., & Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology*, 220, 63-72. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.12.015>
- Choi, S. M., Rao, K. M., Zo, S. M., Shin, E. J., & Han, S. S. (2022). Bacterial Cellulose and Its Applications. *Polymers*, 14(6), 1080. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/polym14061080>
- Coban, E. P., Biyik, H. H., & Cetin, Ö. (2021). Environmentally friendly bacterial cellulose films for food packaging. *Food Sci. Technol.*, 5, 127-135.
- Cohen, G., Sela, D., & Nolden, A. (2023). Sucrose Concentration and Fermentation Temperature Impact the Sensory Characteristics and Liking of Kombucha. *Foods* (Basel, Switzerland), 12(16), 3116.

- Cueva Ruano, J. (2019). Test de fermentación aplicando levaduras y bacterias aisladas desde el consorcio microbiano kombucha. [Tesis de grado]. Universidad Técnica Particular de Loja, Loja.
- Cujilema, T. G. (2021). Bebidas funcionales desarrolladas a partir de una comunidad simbiótica de levaduras y bacterias (SCOBY). [Trabajo de titulación]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba.  
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/15538/1/27T00491.pdf>
- Czaja, W., Krystynowicz, A., Bielecki, S., & Brown, R. M. (2006). Microbial cellulose--the natural power to heal wounds. *Biomaterials*, 27(2), 145–151.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.07.035>
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M. (2014). Hibiscus sabdariffa L.—A phytochemical and pharmacological review. *Food chemistry*, 165, 424-443.
- Dantas Coelho, R., de Almeida, A. L., Gurgel, d. A., da Mota, R. N., & M. de Sousa, P. H. (2020). Kombucha: Review. *International Journal of Gastronomy and Food Science*(22). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100272>
- Dourado, F., Gama, M., & Rodrigues, A. C. (2017). A Review on the toxicology and dietetic role of bacterial cellulose. *Toxicology Reports*, 4, 543-553.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.09.005>
- Esa, F., Tasirin, S., & Rahman, N. (2014). Overview of Bacterial Cellulose Production and Application. *Procedia*, 2, 113-119.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.017>
- Fernandes, I. A., Pedro, A. C., Ribeiro, V. R., Bortolini, D. G., Ozaki, M. S., Maciel, G. M., & Haminiuk, C. W. (2020). Bacterial cellulose: From production optimization to new applications. *International journal of biological macromolecules*, 164, 2598–2611.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.255>

- Fernández, J., & Muñoz, L. (2022). Evaluación de las características fisicoquímicas y sensoriales de una bebida de Kombucha con adición de maracuyá. Tesis de posgrado. Universidad de las Américas, Quito.
- García Loor, F. J. (2022). Evaluación del crecimiento del cultivo simbiótico de celulosa (SCOBY) y características sensoriales en kombucha obtenida a partir de diferentes sustratos. Tesis de grado. Universidad Laica "Eloy Alfaro" de Manabí, Manta.
- Gupta, P., & Batul, D. (2017). Bacterial exopolysaccharide mediated heavy metal removal: a review on biosynthesis, mechanism and remediation strategies. *Biotechnology Reports*, 13, 58-71.
- Hamed, D. A., Maghrawy, H. H., & Abdel Kareem, H. (2022). Biosynthesis of bacterial cellulose nanofibrils in black tea media by a symbiotic culture of bacteria and yeast isolated from commercial kombucha beverage. *World journal of microbiology & biotechnology*, 39(2), 48. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11274-022-03485-0>
- Hammel, R., Karakilic, V., & Shaw, F. (2016). The affect of temperature and pH on the food safety of kombucha tea. *BCIT Environmental Public Health Journal*.
- Helenius, G., Bäckdahl, H., Bodin, A., Nannmark, U., Gatenholm, P., & Risberg, B. (2006). In vivo biocompatibility of bacterial cellulose. *Journal of Biomedical Material Research*, 76A(2), 431-438. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/jbm.a.30570>
- Hestrin, S., & Schramm, M. J. B. J. (1954). Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. 2. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *Biochemical Journal*, 58(2), 345.
- Huerta, N. V., Alcántara, I. S., Soto, C. S., Zaca, M. P., Orduña, D. ., Arcila, L. L., & Rojas, L. M. (2022). Efecto de la sacarosa en la síntesis de celulosa bacteriana por fermentación de kombucha en té negro (*Camellia sinensis*). *Frontera Biotecnológica*. <https://www.revistafronterabiotecnologica.cibatlaxcala.ipn.mx/volumen/vol22/pdf/vol-22-2.pdf>
- Illana, c. (2007). El hongo kombucha. *Boletín de la socieda micológica de madrid*, 269 -272.



- International Camellia Society. (2024). Bienvenido a la Sociedad Internacional de la Camelia. <https://internationalcamellia.org/es/>
- Jamshidian, M., Tehrany, E. A., Imran, M., Jacquot, M., & Desobry, S. (2010). Poly-Lactic Acid: Production, applications, nanocomposites, and release studies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5), 552-571. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2010.00126.x>
- Jaramillo, R. D., Perna, O., Ríos, L., & Escobar, J. (2014). Efecto de la melaza de caña tratada con ácido sulfúrico en la producción de celulosa por *Gluconacetobacter xylinus* IFO 13693. *Revista Colombiana de Química*, 43(2), 5321. <https://doi.org/https://doi.org/10.15446/rev.colomb.quim.v43n2.53121>
- Jarvis, C. (2007). Linnean Plant Names and their Types (part T). In *Order out of Chaos. Linnaean Plant Types and their Types*. (pp. 878-905). Linnaean Society of London in association with the Natural History Museum. Gbif.
- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., & Sathishkumar, M. (2014). A Review on Kombucha Tea—Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 13(4), 538-550. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>
- Jiménez, S. D., Merchán, S. J., & Tigre, C. J. (2021). Obtención de celulosa bacteriana a base de kombucha por sustitución de té negro por té de cáscara de café. *Ingeniería Química y Desarrollo*. Universidad de Guayaquil, Guayaquil. <https://revistas.ug.edu.ec/index.php/iqd/article/view/2374/3270>
- Keshk, S. M. (2014). Bacterial cellulose production and its industrial applications. *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, 4(2), 1-10. <https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000150>
- Khan, S. B., & Kamal, T. (2021). *Bacterial Cellulose: Synthesis, Production, and Applications*. CRC Press.

- Kruk, M., Trzaskowska, M., Ścibisz, I., & Pokorski, P. (2021). Application of the "SCOBY" and Kombucha Tea for the Production of Fermented Milk Drinks. *Microorganisms*, 9(1), 123. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010123>
- Kwak, M. H., Kim, J. E., Go, J., Koh, E. K., Song, S. H., Son, H. J., Kim, H. S., Yun, Y. H., Jung, Y. J., & Hwang, D. Y. (2015). Bacterial cellulose membrane produced by *Acetobacter* sp. A10 for burn wound dressing applications. *Carbohydrate polymers*, 122, 387-398. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.10.049>
- Lahiri, D., Nag, M., Dutta, B., Dey, A., Sarkar, T., Pati, S., Edinur, H., Abdul Kari, Z., Mohd Noor, N. H., & Ray, R. (2021). Bacterial Cellulose: Production, Characterization, and Application as Antimicrobial Agent. *International journal of molecular sciences*, 22(23), 12984. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms222312984>
- Laureys, D., Britton, S., & De Clippeleer, J. (2020). Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1080/03610470.2020.173415>
- Leal, M., Suarez, V., Jayabalan, R., Oros, H., Escalante-Aburto, A., 2018. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - J. Food*, 16(1), 390–399. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>.
- Lee, K., Aitomäki, Y., Berglund, L., Oksman, K., & Bismarck, A. (2014). On the use of nanocellulose as reinforcement in polymer matrix composites. *Composites Science and Technology*, 105, 15-27. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2014.08.032>
- León, J. (1987). *Botánica de los cultivos tropicales* (Vol. 84). Bib. Orton IICA/CATIE.
- Lescano, J. A. (2015). Características físico-químicas y capacidad antioxidante de "Kombucha". (Tesis para obtener el título profesional de biólogo). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo. <https://hdl.handle.net/20.500.14414/8783>
- Lin, S. P., Loira Calvar, I., Catchmark, J. M., Liu, J. R., Demirci, A., & Cheng, K. C. (2013). Biosynthesis, production and applications of bacterial cellulose. *Cellulose*, 20(5), 2191-2219.

- Liu, S., Chen, J., Wang, Y., & Xu, Y. (2023). Effect of dietary antioxidants on the risk of prostate cancer. Systematic review and network meta-analysis. *Nutrición Hospitalaria*, 40(3).
- Lončar, E. S., Petrović, S. E., Malbaša, R. V., & Verac, R. M. (2006). Biosynthesis of glucuronic acid by means of tea fungus. *Nahrung*, 44(2), 138-139.
- Malbaša, R., Lončar, E., & Kolarov, L. J. (2011). Sucrose and inulin biosynthesis by Kombucha colonies: products and properties. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly*, 142(1), 55-63.
- Martínez Leal, J., Valenzuela Suárez, L., Jayabalan, R., Huerta Oros, J., & Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA-Journal of Food*, 16(1), 390-399.
- Mendelson, C., Sparkes, S., Merenstein, D. J., Christensen, C., Sharma, V., Desale, S., ... & Hutkins, R. (2023). Kombucha tea as an anti-hyperglycemic agent in humans with diabetes—a randomized controlled pilot investigation. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1190248. <https://revistas.ug.edu.ec/index.php/iqd/article/view/2374>
- Mendelson, C., Sparkes, S., Merenstein, D. J., Christensen, C., Sharma, V., Desale, S., Auchtung, J. M., Reen, K. C., Hallen, A. H., & Hutkins, R. (2023). Kombucha tea as an anti-hyperglycemic agent in humans with diabetes—a randomized controlled pilot investigation. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1190248. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnut.2023.1190248/full>
- Ming, T. L. (1992) A revision of *Camellia* sect. *Thea*. *Acta Botanica Yunnanica*. 14(2), 115-132. In Chinese.
- Orellana, n. (2015). Reutilización de polímetros como alternativa socio ambiental y económica en la elaboración de eco bloques. Cuenca.
- Paul, A., Lim, C., Apu, M., Dolma, K., Gupta, M., & Pereira, M. (2023). Are Fermented Foods Effective against Inflammatory Diseases? *Int J Environ Res Public Health*, 20(3), 2381.

- Pei, J., Jin, W., Abd El-Aty, A. M., Baranenko, D. A., Gou, X., Zhang, H., ... & Yue, T. (2020). Isolation, purification, and structural identification of a new bacteriocin made by *Lactobacillus plantarum* found in conventional kombucha. *Food Control*, 110, 106923.
- Picheth, G. F., Pirich, C. L., Sierakowski, M. R., Woehl, M. A., Sakakibara, C. N., de Souza, C. F., Martin, A. A., da Silva, R., & de Freitas, R. A. (2017). Bacterial cellulose in biomedical applications: A review. *International journal of biological macromolecules*, 104(A), 97-106. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.171>
- Rachtanapun, P., Klunklin, W., Jantrawut, P., Leksawasdi, N., Jantanasakulwong, K., Phimolsiripol, Y., Seesuriyachan, P., Chaiyaso, T., Ruksiriwanich, W., Phongthai, S., Sommano, S. R., Punyodom, W., Reungsang, A., & Ngo, T. M. (2021). Effect of Monochloroacetic Acid on Properties of Carboxymethyl Bacterial Cellulose Powder and Film from Nata de Coco. *Polymers*, 13(4), 488. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/polym13040488>
- Rani, m. U. (2011). Production of bacterial cellulose by *gluconacetobacter hansenii* uac09 using coffee cherry husk. *Association of food scientists & technologists*, 755-760
- Rani, M. U., & Menon, S. (2019). Valorization of coconut cream residue for the production of high-quality bacterial cellulose: Optimization of process parameters using Response Surface Methodology. *Carbohydrate Polymers*, 216, 199-207. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.04.027>
- Riofrio, C., Oviedo, C., & Navarro, D. (2019). Importancia de productos biodegradables en Ecuador. *Revista Observatorio de la Economía*.
- Robles, A. V. (2011). Determinación de parámetros de fermentación para la producción de kombucha utilizando una población mixta de microorganismos denominado fermento de té. Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Abancay, Perú. <http://repositorio.unamba.edu.pe/handle/UNAMBA/418>

- Rodrigues, P., Saska, S., Barud, H., Roncalho, L., da Conceição, V., de Guzzi, A., Lima, S., & Minarelli, A. (2016). Bacterial Cellulose/Collagen Hydrogel for Wound Healing. *Materials Research*, 19, 106-116.
- Saeed, M., Naveed, M., Arif, M., Kakar, M. U., Manzoor, R., Abd El-Hack, M. E., ... & Sun, C. (2017). Green tea (*Camellia sinensis*) and l-theanine: Medicinal values and beneficial applications in humans—A comprehensive review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 95, 1260-1275.
- Saizar, c. (2010). Línea de base para evaluar el impacto de una planta de celulosa en el río uruguay. Innotec.
- Salari, M., Khiabani, M. S., Mokarram, R. R., Ghanbarzadeh, B., & Kafil, H. S. (2018). Development and evaluation of chitosan based active nanocomposite films containing bacterial cellulose nanocrystals and silver nanoparticles. *Food hydrocolloids*, 84, 414-423.
- Santos de Dios, S. (2015). *Aplicación de la celulosa bacteriana a la restauración del patrimonio bibliográfico y documental en papel*. [Tesis de ingeniería inédita]. Universidad Politécnica de Madrid.
- Santos, M. D. (2016). Kombucha: caracterização da microbiota e desenvolvimento de novos produtos alimentares para uso em restauração. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em CiênciasGastronomicas. Universidade Nova de Lisboa, Lisboa. Retrieved Marzo 08, 2021, from <http://hdl.handle.net/10362/19346>
- Shah, N., Ul-Islam, M., Khattak, W. A., & Park, J. K. (2013). Overview of bacterial cellulose composites: a multipurpose advanced material. *Carbohydrate polymers*, 98(2), 1585-1598.
- Singhania, R. R., Patel, A. K., Tseng, Y. S., Kumar, V., Chen, C. W., Haldar, D., Saini, J. K., & Dong, C. D. (2022). Developments in bioprocess for bacterial cellulose production. *Bioresource technology*, 344(B), 126343. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126343>

- Siró, I., & Plackett, D. (2010). Microfibrillated cellulose and new nanocomposite materials: a review. *Cellulose*, 17, 459-494.
- Sornoza, C. K., Siguenza, S. M., & Mayorga, D. L. (2021). Producción y caracterización de un biopolímero obtenido a partir de residuos agroindustriales del cacao (CCN-51). *Ingeniería Química y Desarrollo*, 3(1), 17-29.  
<https://revistas.ug.edu.ec/index.php/iqd/article/view/2197/3115>
- Tanya Morocho, Mariuxi, & Leiva-Mora, Michel. (2019). Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. *Centro Agrícola*, 46(2), 93-103.
- Teyssier, C., Hamdouche, Y., 2016. Acetic acid bacteria: prospective applications in food biotechnology. In: Teyssier, C. (Ed.), *Fermented Foods: Part I: Biochemistry and Biotechnology*. CRC Press, Northwestern, FL.
- Torres Palazzolo, C. (2015). Determinación de la contaminación con *Zygosaccharomyces rouxii* durante la elaboración de jugos de uva concentrados. Tesis de grado. Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza.
- Torres, F. G., Arroyo, J. J., & Troncoso, O. P. (2019). Bacterial cellulose nanocomposites: An all-nano type of material. *Materials Science and Engineering: C*, 98, 1277-1293.
- Tsilo, P. H., Basson, A. K., Ntombela, Z. G., Dlamini, N. G., & Pullabhotla, R. V. (2023). Application of Iron Nanoparticles Synthesized from a Bioflocculant Produced by Yeast Strain *Pichia kudriavzevii* Obtained from Kombucha Tea SCOBY in the Treatment of Wastewater. *International journal of molecular sciences*, 24(19), 14731.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms241914731>
- Tuya Salas, J., Gutiérrez Moreno, S., Merino, F. (2021). Ensayos preliminares para producción de celulosa por bacterias aisladas de caña de azúcar. *Rev. Soc. Quím. Perú*, 87(2), 128-136. <http://dx.doi.org/10.37761/rsqp.v87i2.339>
- Ullah, H., Santos, H. A., & Khan, T. (2016). Applications of bacterial cellulose in food, cosmetics and drug delivery. *Cellulose*, 23, 2291-2314.
- Vargas, L. J., & Vargas, M. F. (2011). Elaboración de una bebida refrescante fermentando la simbiosis kombucha con el objeto de mejorar la calidad de vida de los consumidores

de bebidas no alcohólicas. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Universidad Técnica de Ambato, Ambato.

<http://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/1759>

Vázquez Morales, M. (2021). Estandarización del proceso de fermentación y evaluación sensorial de una bebida tipo kombucha utilizando infusiones herbales. Tesis de pregrado. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro.

Vázquez, C. L., López, U. P., López, E. A., Navarro, M. M., Espinoza, G. A., & Guzmán, A. M. (2017). Effects of green tea and its epigallocatechin (EGCG) content on body weight and fat mass in humans: a systematic review. *Nutricion hospitalaria*, 34(3), 731-737. <https://doi.org/10.20960/nh.753>

Villarreal Soto, S., Jalloul Bouajila, S., Souchard, J. P., & Taillandier, P. (2018).

Understanding Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Concise Reviews & Hypotheses in Food Science*, 83(3), 580-588.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1750-3841.14068>

Vitas, J. S., Malbaša, R. V., Grahovac, J. A., & Lončar, E. S. (2018). The antioxidant role of kombucha fermented dairy products. *Foods*, 7(2), 23.

Volova, T. G., Prudnikova, S. V., Kiselev, E. G., Nemtsev, I. V., Vasiliev, A. D., Kuzmin, A. P., & Shishatskaya, E. I. (2022). Bacterial Cellulose (BC) and BC Composites: Production and Properties. *Nanomaterials (Basel, Switzerland)*, 12(2), 192. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/nano12020192>

Wang, J., Tavakoli, J., & Tang, Y. (2019). Bacterial cellulose production, properties and applications with different culture methods—A review. *Carbohydrate polymers*, 219, 63-76.

Watawana, M.I., Jayawardena, N., Gunawardhana, C.B., Waisundara, V.Y., 2015a. Health, wellness, and safety aspects of the consumption of Kombucha. *J. Chem.* 1–11. <https://doi.org/10.1155/2015/591869>, 2015.

- Watawana, M.I., Jayawardena, N., Waisundara, V.Y., 2015b. Enhancement of the functional properties of coffee through fermentation by "tea fungus" (kombucha). *J. Food Process. Preserv.* 39 (6), 2596–2603. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12509>.
- Whitesides, G. M. (2005). Nanoscience, nanotechnology, and chemistry. *Small* (Weinheim an der Bergstrasse, Germany), 1(2), 172-179.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/sml.200400130>
- Xu, H., & Wang, S. (2018). Current progress in production of biopolymeric materials based on cellulose, cellulose nanofibers, and cellulose derivatives. *Royal Society of Chemistry*, 8, 825-842.
- Yano, H., Sugiyama, J., Nakagaito, A. N., Nogi, M., Matsuura, T., Hikita, M., & Handa, K. (2005). Optically transparent composites reinforced with networks of bacterial nanofibers. *Advanced Materials*, 17(2), 153-155.
- Zhou, I. (2007). Effect of addition of sodium alginate on bacterial cellulose production by *acetobacter xylinum*. *Society for industrial microbiology*, 484 - 487.