

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

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

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.

Elaborado por:
Nelson Efraín Valdiviezo

Director del Proyecto:
Sungey Sánchez, Ph.D.



Introducción

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).



película de celulosa, también llamada hongo del té o SCOBY, conformada por bacterias y levaduras.



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.



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.



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

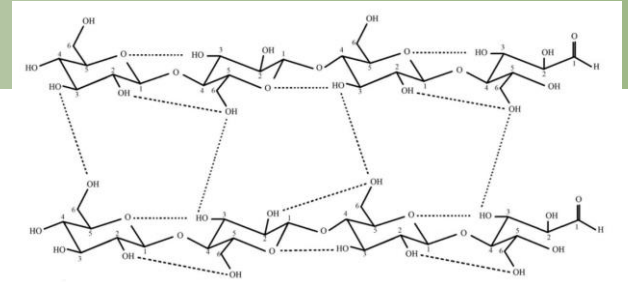
- Aislar e identificar el microbiota natural de las muestras Kombucha (*Medusomyces gisevi*) desarrollados a partir de té negro (*Camellia sinensis*) y té de Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)
- Preparar los dos tipos de té negro (*Camellia sinensis*) y té de Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*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



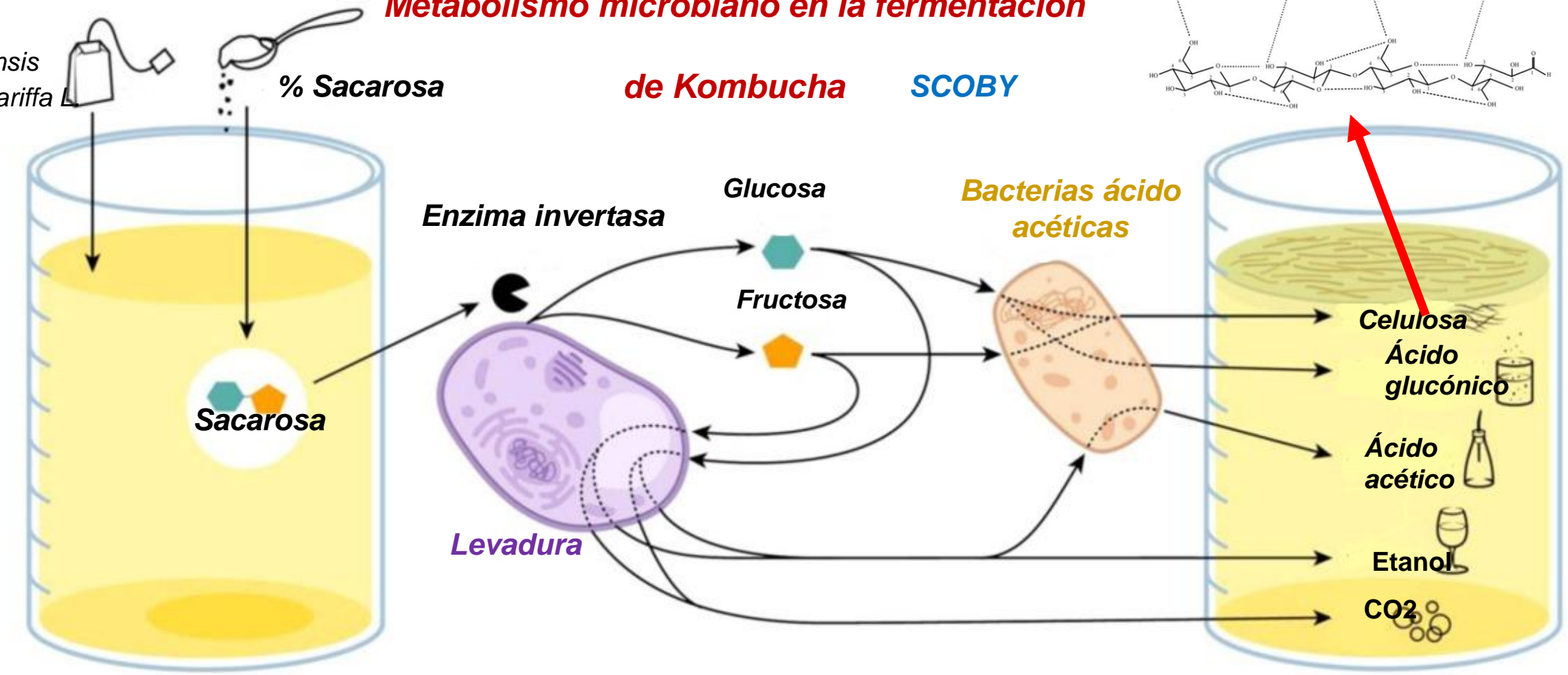
Marco teórico

Metabolismo microbiano en la fermentación

de Kombucha SCOBY

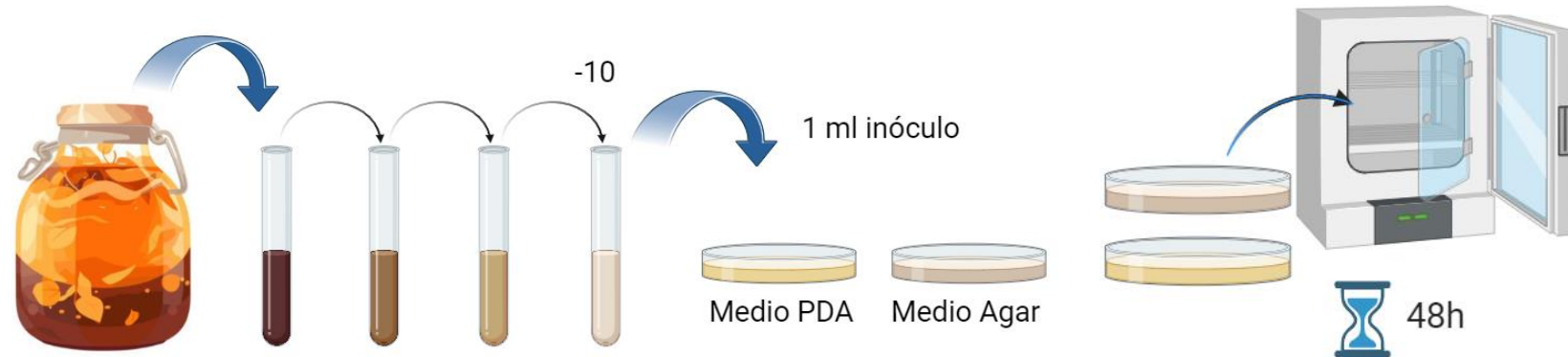


Camellia sinensis
Hibiscus sabdariffa

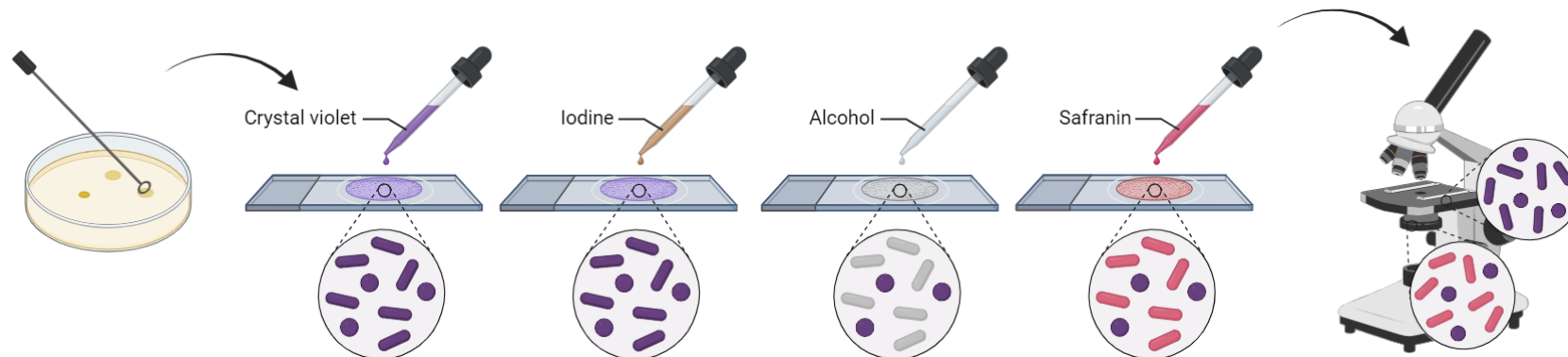


Metodología

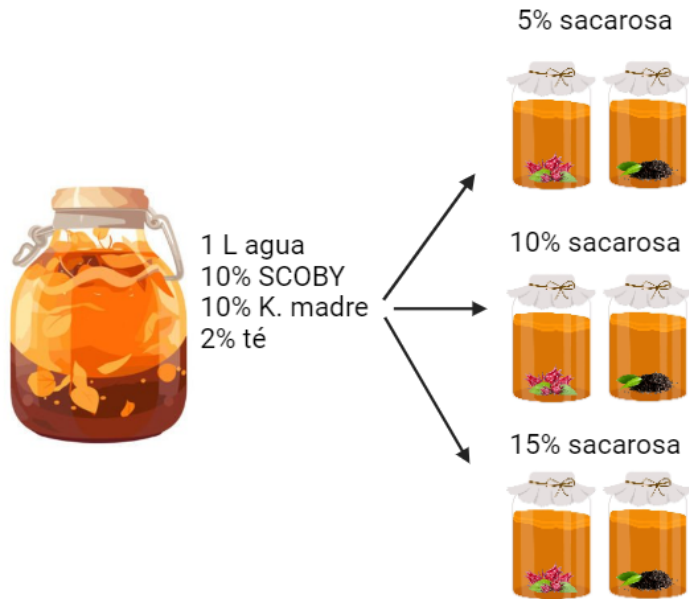
Aislamiento de microbiota natural de las muestras Kombucha



Identificación por microscopía

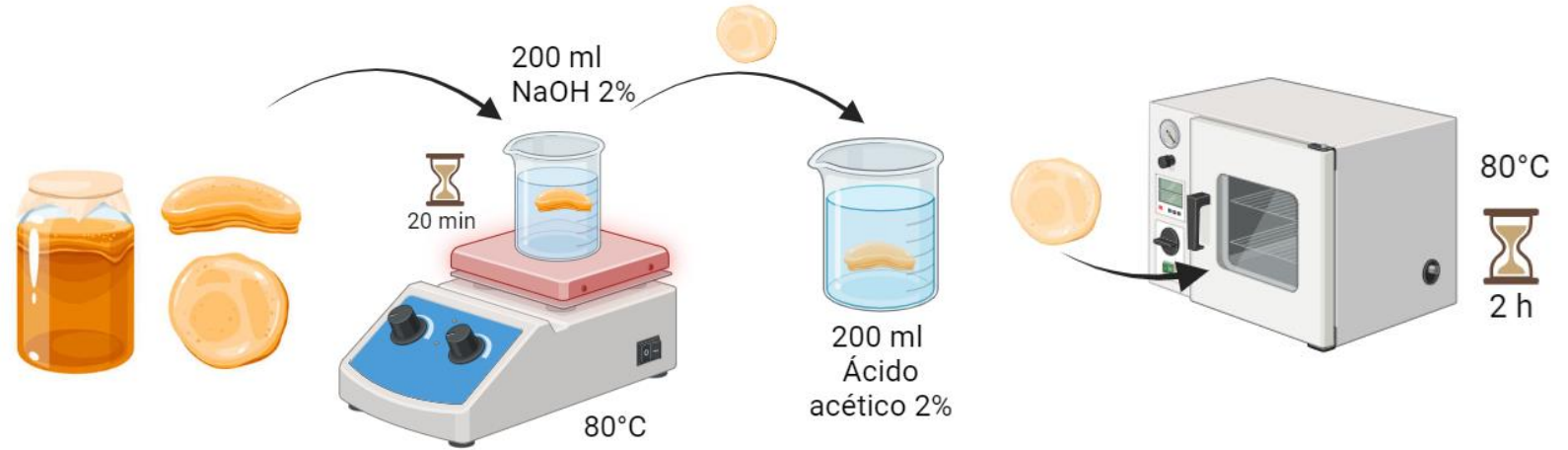


Preparación de los dos tipos de kombucha (Té negro y Té de Jamaica)



Fermentación durante 30 días
Variables medidas: pH, grados brix, peso en húmedo.
Caracte

Purificación de la celulosa cosechada



Se repitió 3 veces antes de secar

Análisis fisicoquímicos

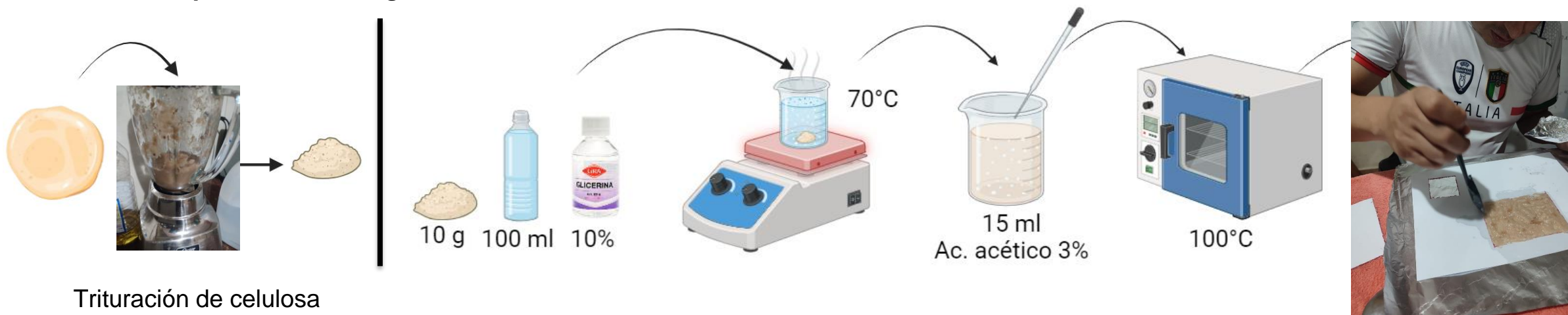
Se analizaron variables de la celulosa:

- pH
- Calibre
- Humedad
- Gramaje
- Densidad



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

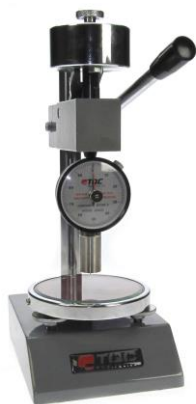
Elaboración de productos biodegradables



Trituración de celulosa

Características físicas de los productos biodegradables

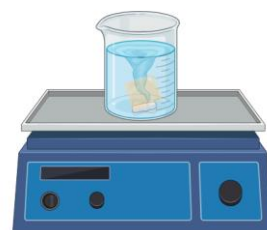
Dureza



Elasticidad



Solubilidad



100 rpm
1 h

Secado en estufa 45°C
y luego a 105°C



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Diseño experimental

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

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

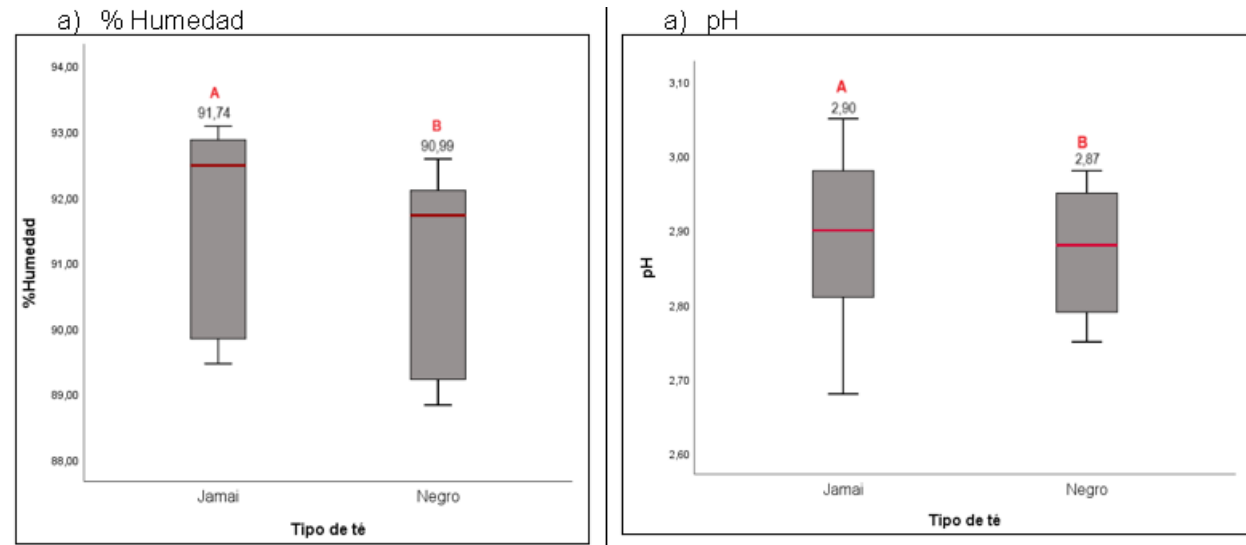
Factores	Simbología	Niveles
Tipo de té (A)	a0	Té negro
	a1	Té Flor de Jamaica
Concentración de sacarosa (B)	b0	10% (p/v)
	b1	15% (p/v)
	b2	20% (p/v)

Variables fisicoquímicas

- pH
- Grados brix
- Humedad



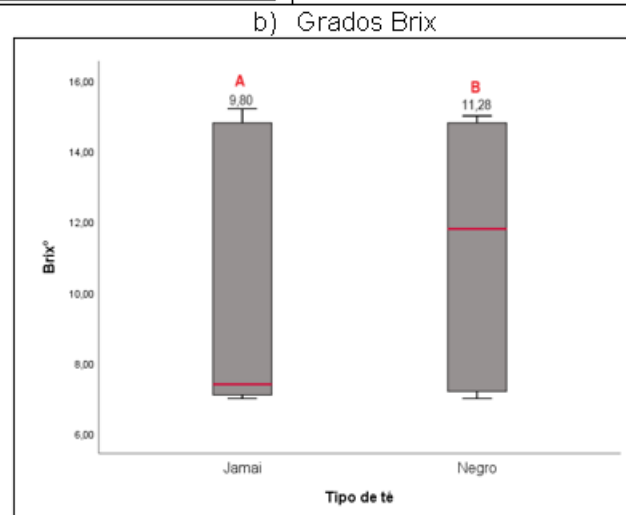
Resultados y discusión



Esa et al. (2014) encontraron humedades entre 90-92% para películas de celulosa bacteriana producidas por *Gluconacetobacter xylinus*.

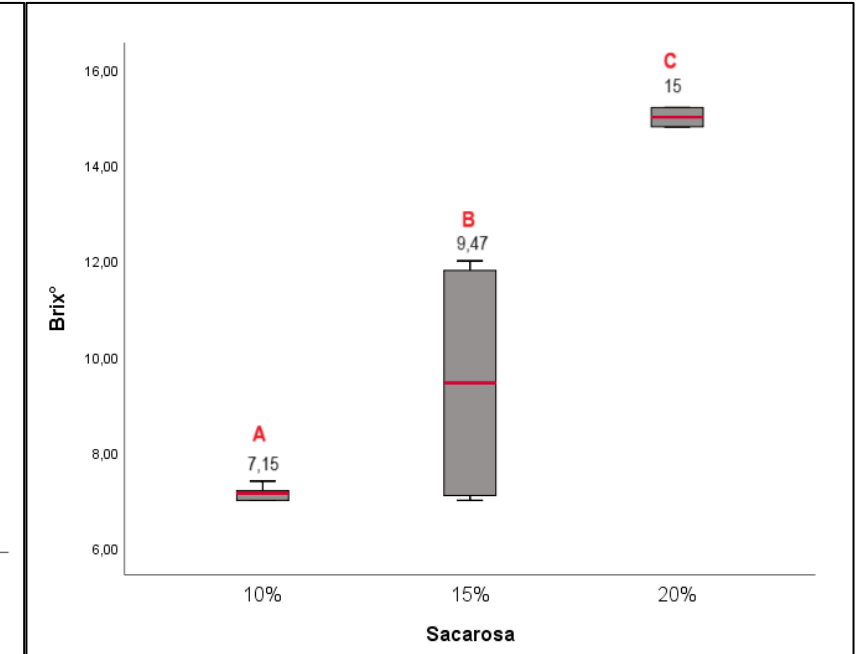
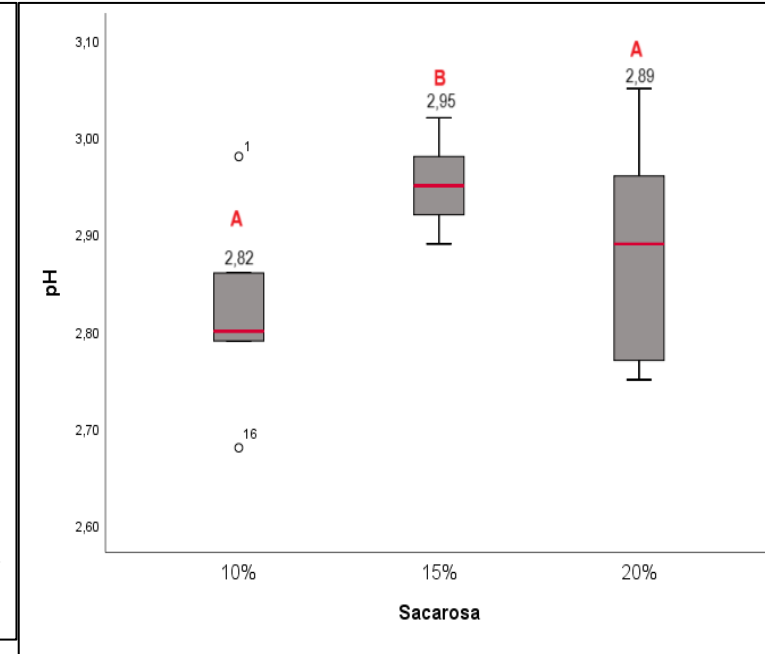
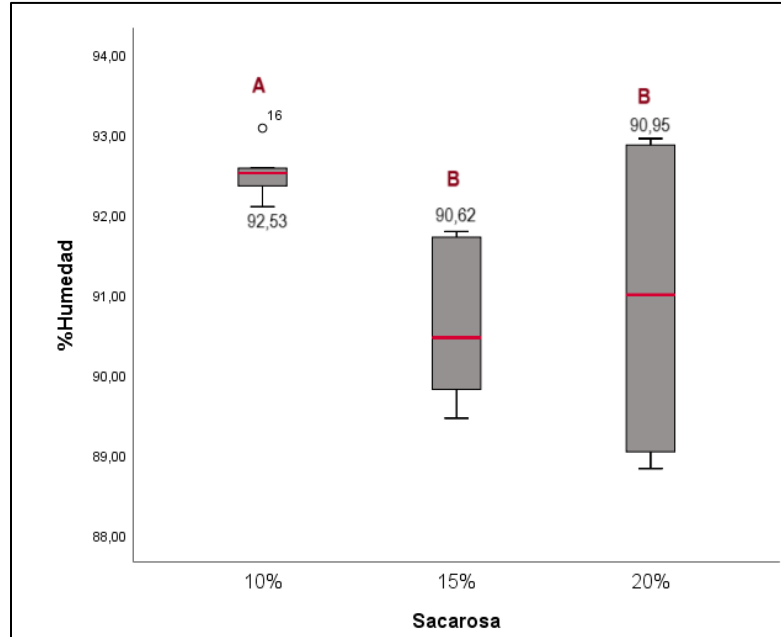
Estos valores de pH ácidos son típicos en los cultivos de kombucha debido a la producción de ácidos orgánicos, como el ácido acético y glucónico, por parte de las bacterias ácido-acéticas (Jayabalan et al., 2014).

Factor A
(tipo té)



Resultados y discusión

Factor B (Porcentaje de sacarosa)



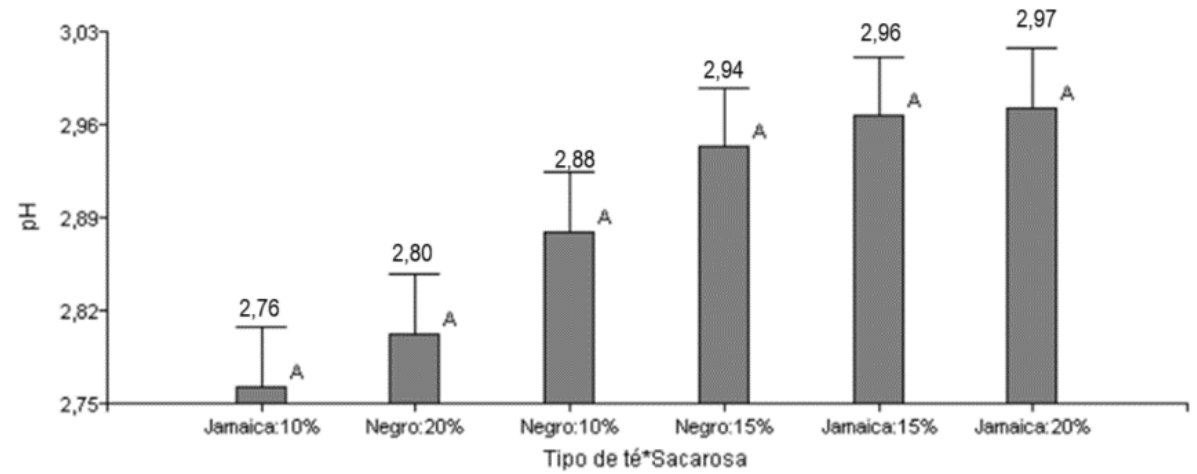
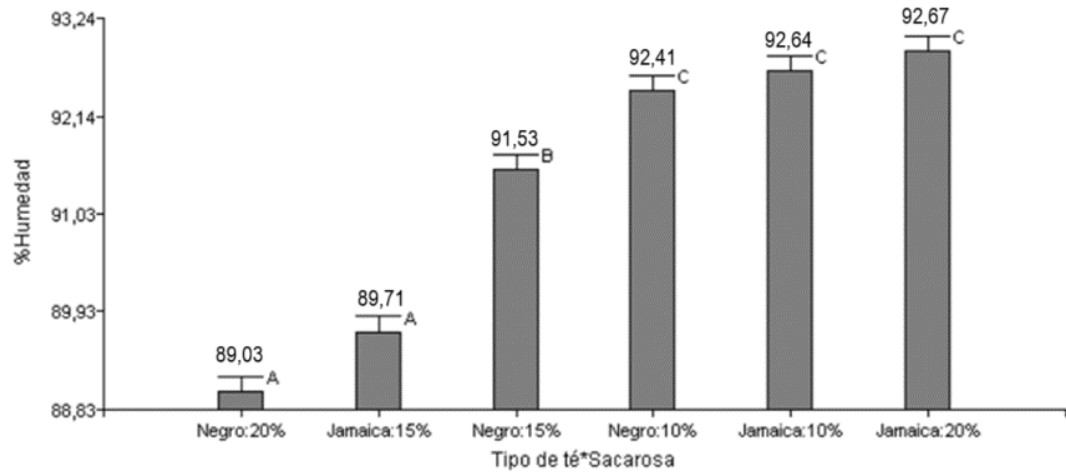
Rani y Menon (2019), quienes encontraron que la humedad de las películas de celulosa bacteriana disminuía a medida que aumentaba la concentración de sacarosa en el medio de cultivo.

Jayabalan et al. (2014), quienes mencionan que la producción de ácidos orgánicos durante la fermentación de la kombucha contribuye a la disminución del pH.

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)**.

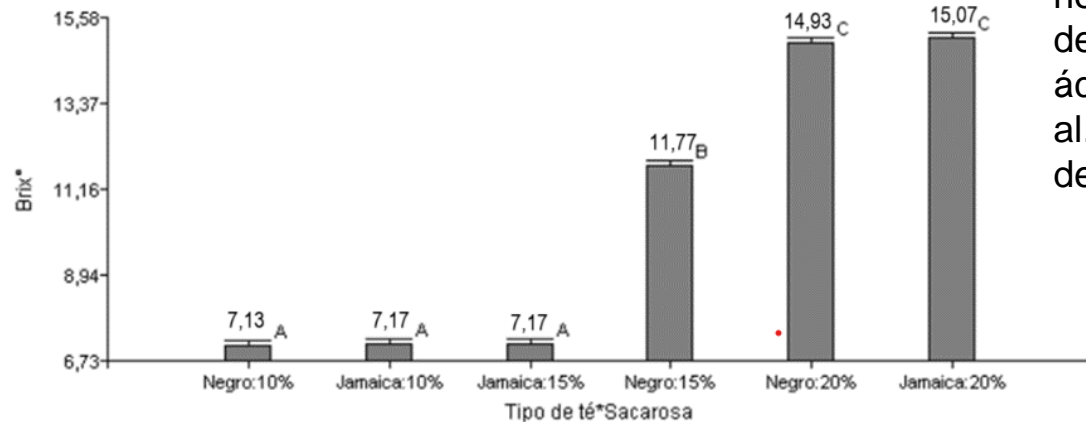


Interacción factor AxB



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.

Según **Chakravorty et al. (2016)**, un pH más alto (cercano 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.

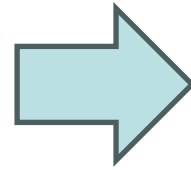
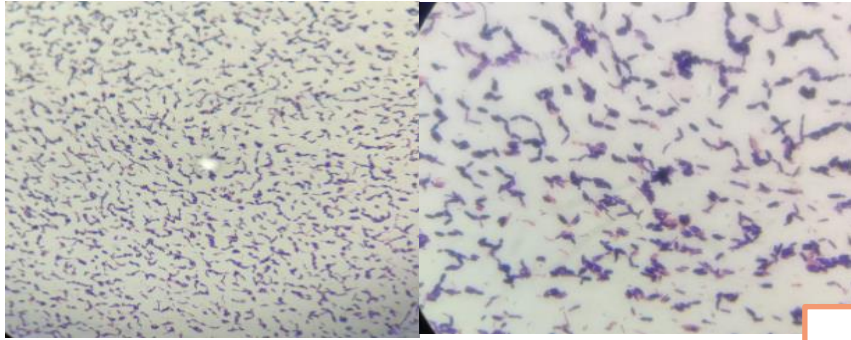


Según **Vitas et al. (2018)**, un alto contenido de sólidos solubles (grados Brix) en la bebida de kombucha puede estar relacionado con una mayor concentración de azúcares residuales, lo que influye en el sabor dulce del producto.



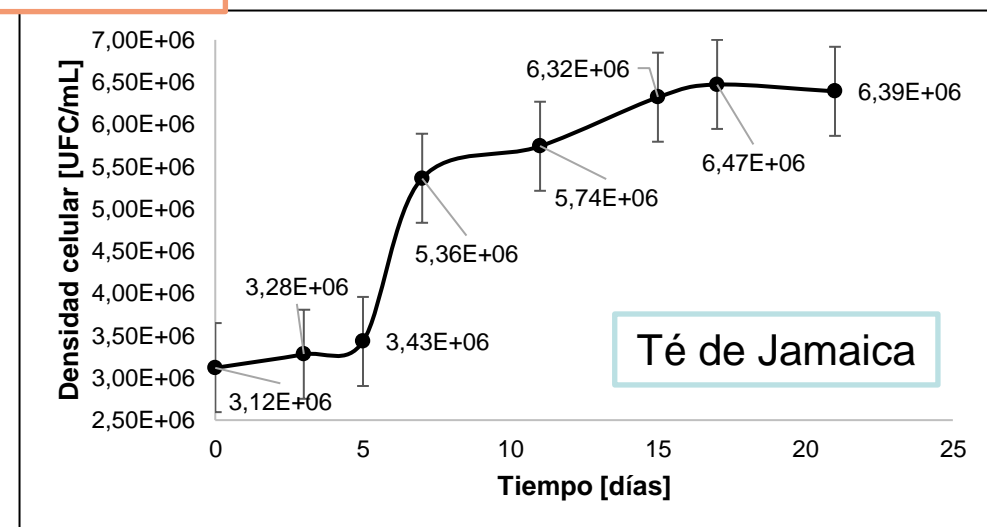
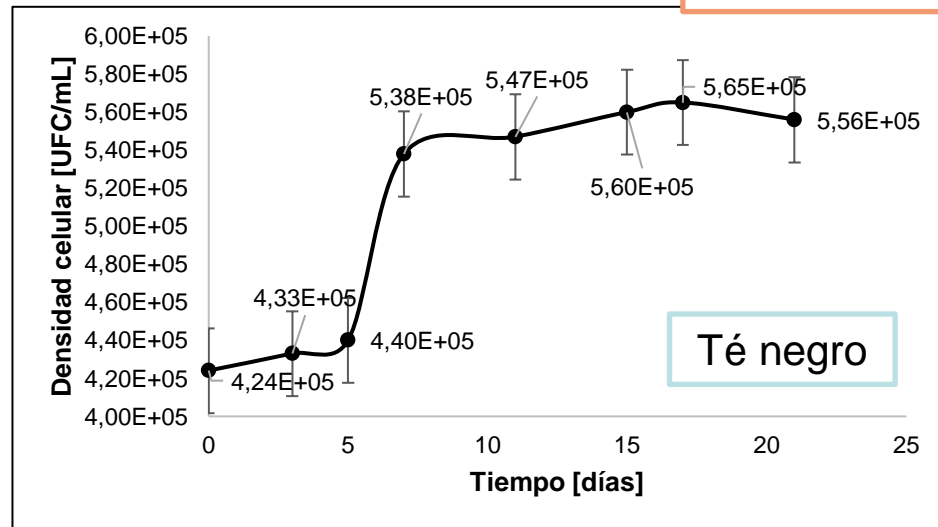
Resultados y discusión

Tinción de Gram en muestras de Kombucha



- El resultado indica que son bacterias Gramnegativas
- Resultado consistente con el género *Gluconobacter*
- Diversas formas, desde cocos hasta bacilos

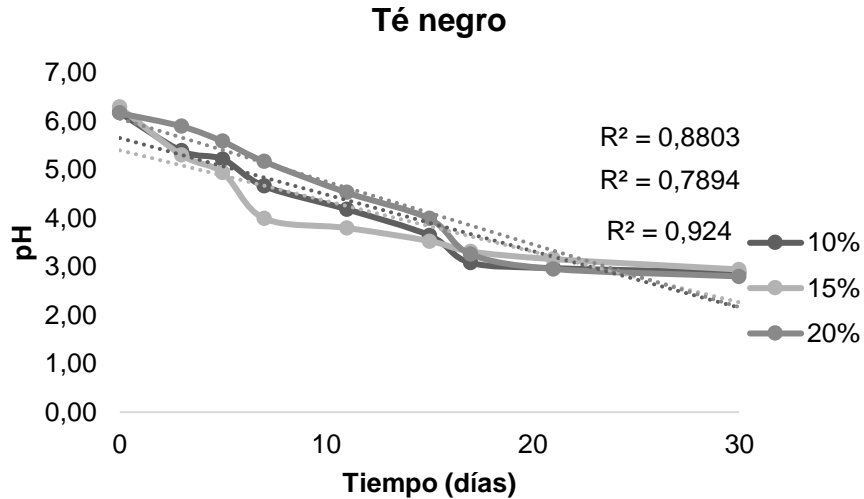
Cinética de crecimiento



El té negro tuvo una población inicial ($4,24 \text{ E}+05 \text{ UFC/ml}$) y final ($5,56 \text{ E}+05 \text{ UFC/ml}$) inferior al de Jamaica ($3,12 \text{ E}+06$ y $6,39 \text{ E}+06 \text{ UFC/ml}$ respectivamente), mostrándose una mayor adaptación del consorcio microbiano en la kombucha de té de Jamaica.

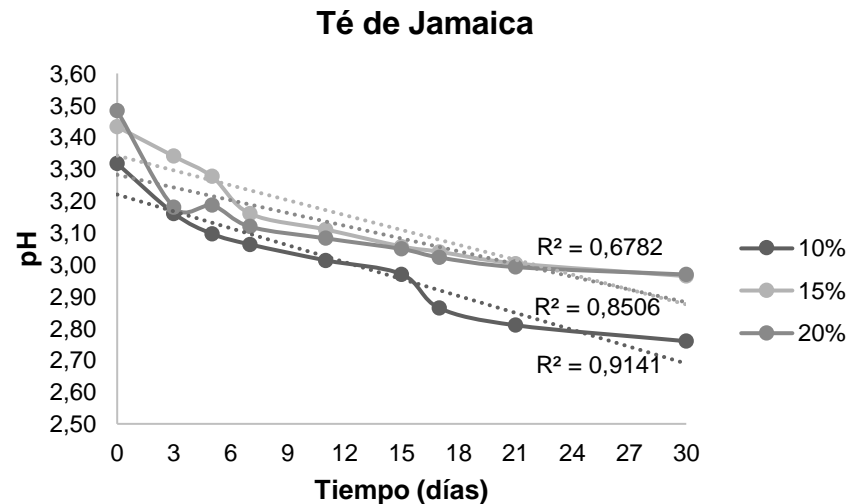
Proceso fermentativo de la Kombucha

Variable: pH



El té negro inició con un pH de $6,18 \pm 0,06$ con una progresión rápida de disminución hasta el día 7 y después una disminución lenta hasta el día 30 (pH = $2,88 \pm 0,07$).

El valor de pH más bajo aceptable no debe descender por debajo de 3, que es del tracto digestivo (Villarreal Soto et al., 2018).

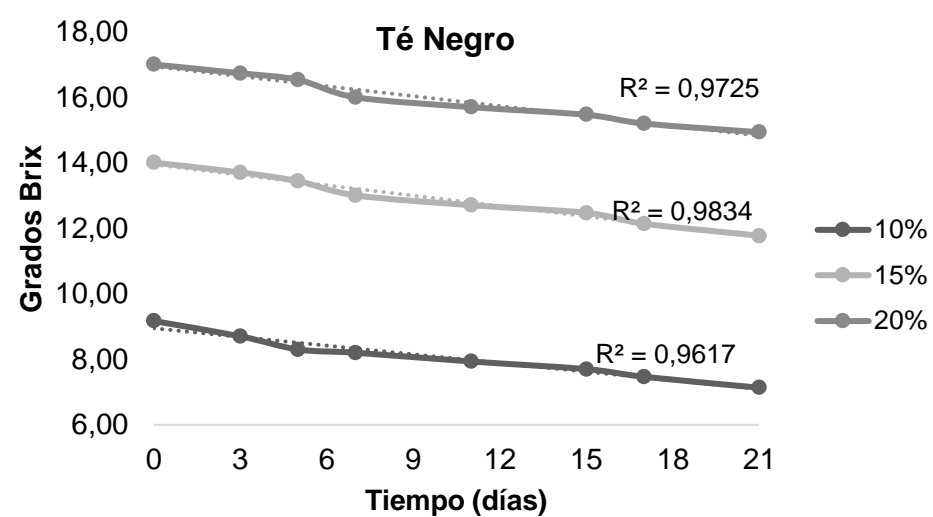


El pH del té de Jamaica más ácido desde un inicio $3,43 \pm 0,086$ sufrió una disminución lenta del pH durante todo el proceso fermentativo con un pH de $2,96 \pm 0,119$ al día 30

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).

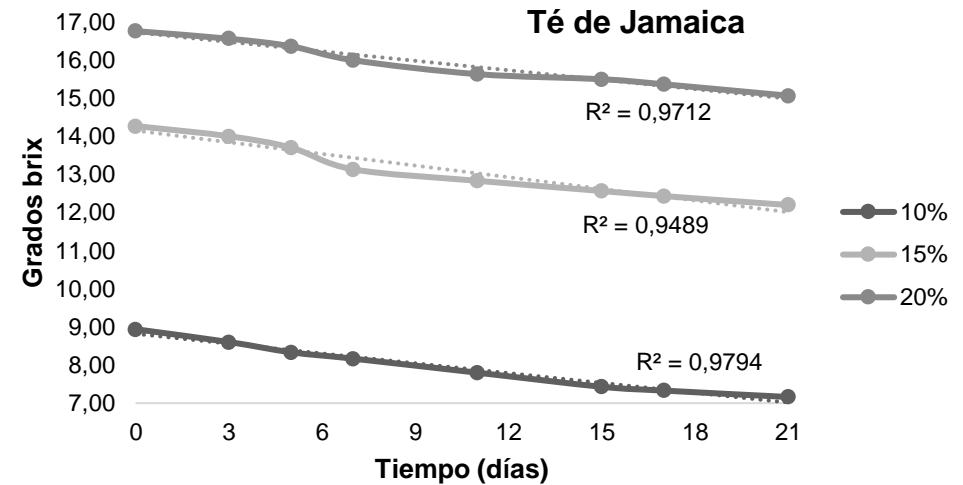
El valor de pH de la kombucha oscila entre 2,5 y 3,5, un pH inferior a 2,5 indica un mayor agotamiento de sacarosa y la posibilidad de un aumento de las concentraciones de etanol (Cohen et al., 2023).

Variable: Grados Brix



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.

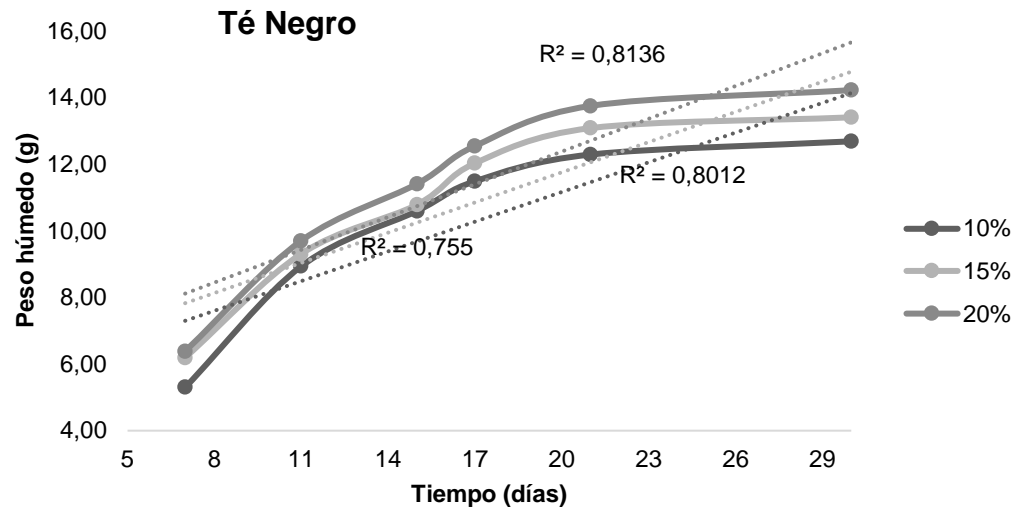
La Kombucha generalmente se prepara con una disolución de 50 a 100 g de sacarosa por litro de agua hirviendo (Laureys et al., 2020)



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.

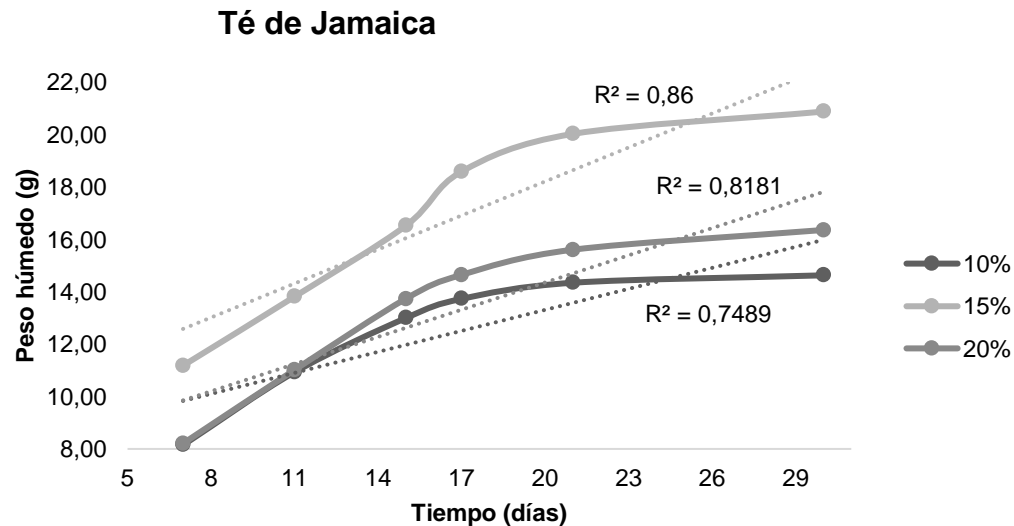
A modo general, se aprecia una disminución paulatina de los grados brix, esta tendencia es consistente con los estudios de (Cueva Ruano, 2019; Fernández & Muñoz, 2022), donde los procesos de fermentación de las diferentes bebidas disminuyen los grados brix por el consumo de los microorganismos.





A partir del día 7 hubo una cantidad considerable para ser medido.

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.



(García Loor, 2022) realizó el peso de la celulosa bacteriana obtenida de kombucha de té negro y otros sustratos a partir del día 11 en un volumen de 3 L de obteniendo 89,50 g al día de corte.

(Hamed et al., 2022) 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.



Obtención de celulosa y productos biodegradables

Celulosa



Bioplástico



Papel



Dimensiones

Radio	3,3	cm
Masa	0,96	g
Espesor	0,04	cm
Volumen	1,368	cm ³
Densidad	0,7015	g/cm ³

Dimensiones

	Bioplástico		Papel		Unidad
	Té negro	Jamaica	Té negro	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 ³
Densidad	1.000	1.030	0.730	0.836	g/cm ³
Dureza	0.168	0.172	0.148	0.164	kg/cm ²



Los valores de densidad del papel de té negro (0.730 g/cm^3) y té de Jamaica (0.836 g/cm^3) cumplen con el rango establecido por la norma ISO 534:2011 para papel y cartón ($0.6 - 1.2 \text{ g/cm}^3$).

Los valores de densidad obtenidos (1.000 g/cm^3 para té negro y 1.030 g/cm^3 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^3 (Jamshidian et al., 2010).

Los valores de dureza obtenidos (0.148 - 0.172 kg/cm^2) son coherentes con los rangos esperados para materiales poliméricos naturales y bioplásticos (Auras et al., 2004).



Conclusiones

Tipo de té

El tipo de té utilizado (té de Jamaica vs. té negro) tuvo un impacto notable en las variables. El té de Jamaica mostró un pH más ácido, un mayor consumo de sacarosa y un porcentaje de humedad superior en comparación con el té negro.

Tipo de concentraciones

La concentración de sacarosa influye notablemente en el pH, grados Brix y humedad en la fermentación de kombucha. Concentraciones más altas (20%) resultan en menor humedad, pH más bajo y mayor contenido de sólidos solubles, afectando la calidad del producto final.

Interacciones

Los tratamientos de kombucha con diferentes tipos de té y concentraciones de sacarosa revelan diferencias en humedad, pH y grados Brix, sugiriendo distintas características y calidad en el producto final. Por ejemplo, el té Jamaica al 20% muestra el mayor pH, mientras que el té negro al 10% tiene el nivel más bajo. Estas variaciones tienen implicaciones para el procesamiento y la calidad del producto.



Correlación del tiempo con el comportamiento de las variables

Los análisis detallados de las variables clave en la fermentación de kombucha revelan correlaciones importantes con el tiempo. El pH muestra una relación inversa con el tiempo, mientras que los grados Brix tienen una correlación directa. Además, el peso del biofilm aumenta con el tiempo, influenciado por la concentración de sacarosa y el tipo de té.

Características del papel y bioplástico

Se produjo celulosa con densidad baja (0.7015 g/cm^3) y laminilla delgada (0.04 cm, diámetro 3.3 cm) indicando una estructura ligera y porosa. Se obtuvieron papel y bioplástico biodegradables con densidades (papel: $0.730\text{-}0.836 \text{ g/cm}^3$, bioplástico: $1.000\text{-}1.030 \text{ g/cm}^3$) y propiedades (dureza, elasticidad) dentro de estándares. Son insolubles en agua y presentan humedad y pH adecuados para diversas aplicaciones industriales, demostrando viabilidad como alternativas sostenibles y funcionales.



Recomendaciones

- La elección del tipo de té influye en las características finales de la bebida fermentada, siendo importante para optimizar el proceso y la calidad del producto.
- La concentración de sacarosa afecta el contenido de sólidos, pH y humedad del producto, requiriendo evaluaciones detalladas para determinar la concentración óptima.
- Las interacciones entre el tipo de té y la concentración de sacarosa impactan la calidad del producto, requiriendo análisis exhaustivos para ajustar el proceso de fermentación.
- Monitorear pH y grados Brix durante la fermentación es esencial para mantener la calidad del producto y cumplir con las especificaciones finales.
- El papel y bioplástico de kombucha cumplen con estándares de calidad, destacando su potencial en aplicaciones de envasado y recubrimiento, aunque se necesita más investigación para optimizar su uso.



Referencias

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 nano-biocomposites* (págs. 13-39). *Springer London*.



Gracias



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA