



**Universidad Michoacana
de San Nicolás de Hidalgo
(cuna de héroes, crisol de pensadores)**

Facultad de Químico Farmacobiología

**“Influencia de las condiciones de fermentación sobre la
producción de scoby en la kombucha”**

TESIS

**Que como requisito parcial para obtener el título de:
Químico Farmacobiólogo**

PRESENTA

Fernando José Cervantes Carranza

ASESORES

Ma. Guadalupe Garnica Romo

Rafael Contreras Chávez



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a dios por permitirme llegar hasta aquí, el tener a todos mis seres más queridos reunidos, al señor del santo entierro que me sacó siempre adelante pese a las dificultades por las cuales pasé a lo largo de la carrera, a la santísima por siempre cuidar de mí en los momentos más difíciles de mi vida.

Quiero agradecer a mi madre Ma. Magdalena Carranza Nava, que se mantuvo al pie del cañón siempre sacando los problemas de la familia sin necesidad de pedir ayuda y siendo madre y padre a la vez, en especial por sacarme adelante y tener éste triunfo que no solo es mío, si no de la familia completa, gracias por ser mi ídolo, el modelo de padre que quiero ser, por tener esa fortaleza que no es fácil de conseguir, por ser esa persona tan trabajadora que no le asusta absolutamente nada y está dispuesta a dar todo por su familia.

A mi familia (mis hermanos y sobrinos), fueron una fuente de inspiración para no rendirme y salir adelante, siempre hemos sido una familia muy unida, ahora será más fácil apoyarlos como en verdad se lo merecen, gracias por siempre confiar en mí, Magdalena, Leticia, Bertha, Juan, Patricia, le doy gracias a dios y a la vida de que me haya tocado ésta bella familia, y éstos bellos hermanos así como mis 9 sobrinos que amo con el alma, algún día regresaré el favor a mis hermanos con sus hijos, gracias por nunca olvidarse de mí pese a la enorme distancia.

A Hugo Oviedo Corral, gracias por darme la fortaleza de emprender otros horizontes, gracias por siempre darme esa fuerza de que sin importar el pasado nadie me iba juzgar, lloro al escribir estos versos, no tengo las palabras para agradecerte el abrirme los ojos, siempre busco la forma de decírtelo en todo momento, este es mi gesto más grande, espero que la vida me tenga deparado un destino contigo, aún recuerdo los momentos en los que me ayudaste a realizar ésta

investigación, pasaron muchos días, gracias y de verdad muchas gracias por estar éste día aquí.

Quiero agradecer a mi tía María Elena Carranza, a pesar de ser parientes lejanos me abrieron las puertas de su casa dándome un lugar donde dormir y la comida necesaria, siempre estaré agradecido de por vida por ese gesto tan maravilloso que nunca olvidaré.

Agradezco a mi asesora Ma. Guadalupe Garnica Romo, pero en especial a mi coasesor Rafael Contreras Chávez, ya que me dio las herramientas necesarias para sacar ésta investigación, así como la confianza y la buena actitud en todo momento a la hora de trabajar, también a los químicos y doctores con los que compartía el espacio de trabajo, ya que me incluían en las investigaciones y además me enseñaban cosas nuevas cada día.

A mis maestros en general, tuve maestros de la más alta calidad académica, siempre quise ser como ellos, esa frase la repetía cada que tenía un examen o simplemente me sentía triste, a la directora M.C. Rosa María García Martínez por siempre brindarme su confianza, por escucharme cada que en verdad necesitaba expresar algo que estaba muy dentro de mí, no importaba si era personal o académico, además claro por esas cátedras impresionantes que me impartía, gracias a la vida por darme personas como usted en mi formación académica.

A la señora Mireya Raya, que en todo momento me abrió las puertas de su casa y me hacía olvidar que mi familia natural estaba a kilómetros de mí, gracias escucharme y desahogarnos a nuestra manera, siempre la llevaré en mi corazón.

A mis amigos en general, encontré en ellos y con sus familias el cálido abrazo y apapacho familiar que extrañaba de casa, ser foráneo y dejar atrás todo es algo que no es nada fácil de hacer, desde el día 1 en Morelia no fue nada grato, siempre será un gran honor llamarlos amigos y colegas, a Elisa Cárdenas Raya y Emmanuel Gaona, toda la vida esté agradecidos por ser mis mejores amigos pese al tiempo y a las circunstancias, gracias por su amistad que siempre tendré justo al lado de mi

corazón. Espero que éste trabajo deje un aporte significativo a la ciencia, las investigaciones seguirán, esperando un grado académico de relevancia.

ÍNDICE

	No. Página
Agradecimientos.....	2
Índice.....	5
Índice de tablas.....	6
índice de figuras.....	7
Resumen.....	8
Abstract.....	9
Introducción.....	10
Justificación.....	11
Objetivos.....	12
Hipótesis.....	13
Marco teórico.....	15
Materiales y métodos.....	26
Resultados y discusión.....	35
Conclusión.....	42
Bibliografías.....	43

ÍNDICE DE TABLAS

	No. Página
Tabla I. Contenido de celulosa de diferentes fuentes vegetales en comparación con la celulosa bacteriana.....	17
Tabla II. Fuentes de carbono y sus ejemplos de los cuales se pueden utilizar como fuente de energía para la fermentación de la kombucha de acuerdo a la necesidad o disponibilidad.	21
Tabla III. Áreas de la industria donde se utilizada la celulosa para producción de materiales.....	23
Tabla IV. Diseño de investigación.....	26
Tabla. V Proceso de muestras iniciales.....	29
Tabla VI. Fermentación a diferentes temperaturas y sacarosa.....	30
Tabla VII. Proceso de fermentación con glucosa y diferentes temperaturas.....	31
Tabla VIII. Purificación de la celulosa.....	32
Tabla IX. Condiciones generales para producción de celulosa bacteriana.....	35
Tabla X. Influencia de la fuente de carbono en la producción de Scoby.....	35
Tabla XI. Influencia de la temperatura en la producción de Scoby.....	38
Tabla XII. Gráfico de las modificaciones en cada ensayo.....	39
Tabla XIII. Influencia de las condiciones de fermentación en la producción de Scoby.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

No. Página

Figura I (A) Imagen de la estructura de la celulosa bacteriana por MEB (B) Enlace intra-hidrógeno de la celulosa bacteriana.....	16
Figura II. (A) Celulosa en cultivo estático. (B) Celulosa en cultivo agitado.....	20
Figura III. Rutas metabólicas para la síntesis de la celulosa.....	22
Figura IV. (A)Estructura química de la celulosa bacteriana. (B) Estructura química del Tereftalato de polietileno (plástico común).....	24
Figura V. Membranas de celulosa producidas (SCOBY).....	37
Figura VI. Difractograma de rayos X. Obtenido en colaboración con (M.C Rafael Contreras Chávez)	39

RESUMEN

La celulosa es la biomolécula de mayor abundancia en la tierra, se encuentra mayoritariamente en las plantas, pero también existen microorganismos y algunas algas marinas que la sintetizan de manera natural. Durante la presente investigación se llevó a cabo un análisis sobre las condiciones de producción de celulosa microbiana (tiempo, fuente de carbono y temperatura) con el fin de obtener la mayor producción de celulosa bacteriana; en una bebida denominada como Kombucha. Para esto se utilizó como materia prima una muestra de kombucha de un productor local y todos los ensayos se realizaron por triplicado. Para la fermentación se utilizó té verde como base, utilizando como fuente de carbono la sacarosa y glucosa, además de incubar a 30,35 y 40°C. La evaluación de las propiedades fisicoquímicas de cada uno de los ensayos fue realizada de manera constante, todos los días se realizaron lecturas de pH, espectrofotometría, colorimetría, grados brix, índice de refracción, así como el peso de la celulosa. El menor rendimiento fue con sacarosa a 30°C, a diferencia del ensayo con glucosa a 35°C, donde conseguimos la mayor cantidad de celulosa aproximadamente 3 veces lo obtenido con sacarosa o fructuosa, recuperando por ensayo hasta 20 gramos de celulosa, tomando su peso en húmedo.

Palabras clave

Celulosa

Temperatura

Fuentes de carbono

Acetobacter

ABSTRACT

Cellulose is the most abundant organic molecule in nature and is of great importance at an industrial level; various organisms, including plants, algae, fungi, bacteria, and animals synthesize it. *Gluconacetobacter xylinum* is the bacteria with the highest cellulose-producing capacity. The objective of this study is to measure the influences of fermentation on the production of scoby in kombucha, for its subsequent application of cellulose in the medical area, being friendlier to the environment, in addition to being used in areas such as textile, mechanics, electricity, and leaving aside plastic products, as well as the felling of trees for the extraction of their cellulose, ultimately the research question is the following. What is the best carbon source, fermentation time, and suitable temperatures to obtain more bacterial cellulose?

INTRODUCCIÓN

La kombucha es una bebida fermentada, no alcohólica, originaria de china, su elaboración data del año 202 a.C y se propagó por el mundo en el año 414 d.C, esto después de que el médico Kombu se diera cuenta de sus propiedades curativas, con la cual alivió los problemas digestivos del emperador japonés Inkyo y fue conocida como "el elixir de la eterna juventud". Hoy en día se ha convertido en una alternativa desintoxicante, tomando en cuenta la fuerte cantidad de toxinas a las que estamos expuestos, además de ser una fuente de microorganismos vivos que nos ayudan a regenerar y reforzar el sistema inmune. Son varios los estudios, tales como la espectrofotometría, cromatografía líquida de alta presión (HPLC) por mencionar las más importantes, que demuestran altos niveles de vitaminas, antioxidantes, prebióticos, ácidos orgánicos y minerales. Pero principalmente orientadas a la fermentación de kombucha como bebida no alcohólica alejada de aditivos sintéticos y saborizantes como potencial bebida saludable. Sin embargo, los estudios enfocados en la producción de celulosa, con el fin de ayudar a sustituir el plástico, así como la elaboración de productos de curación son escasos. Es por ello que el objetivo de esta investigación se enfocó a la producción del SCOBY (cultivo simbiótico de bacterias y levaduras) con la posterior purificación de celulosa, donde se realizaron pruebas modificando las condiciones de fermentación replicando los pasos hasta obtener un resultado confiable y concreto, además de llevar un control del crecimiento, desde su fase logarítmica hasta la fase de decaimiento, llevando así un control específico de cuando y cual es el tiempo necesario de fermentación, así como la producción de scoby durante los días analizados.

JUSTIFICACIÓN

La celulosa bacteriana cada día gana terreno en las aplicaciones industriales dada su eficacia y utilidad que se vuelve más viable y económica, además de amigable con el medio ambiente, haciendo posible que se emplee con mayor facilidad en el grado industrial y dejando de lado los contaminantes que se usan hasta hoy en día que fácilmente pueden ser sustituidos por la celulosa en sus subproductos, donde los recursos que realmente afectan a la naturaleza pueden dejar de ser explotados y llegar a ésta nueva era industrial, como lo es la industria papelera, textil, eléctrica, solo por mencionar algunas.

Así mismo se busca implementar la investigación de la celulosa bacteriana en México, para así mejorar día con día la calidad y la producción en masa, creando más conciencia medioambiental y orientarla con éxito hacia el área biomédica y alimentaria

OBJETIVOS

General

Medir la influencia de las condiciones de fermentación en la kombucha sobre la producción de scoby, por medio de las diferentes fuentes de carbono, temperatura y relación al tiempo de fermentación.

Objetivos específicos

- Determinar la influencia de las condiciones de fermentación sobre el rendimiento de obtención de celulosa
- Determinar la influencia del pH en el proceso de fermentación de la kombucha
- Determinar las condiciones optimas de producción de celulosa

HIPÓTESIS

La producción porcentual de celulosa difiere por cada variable previa a la que es sometida la fermentación, considerando concentración, fuente de carbono y tiempo de fermentación.

Variables

A. Variables dependientes.

Rendimiento porcentual de la celulosa bacteriana

B. Variables independientes

Fuentes de carbono

Temperatura

Tiempo de fermentación

Definición de variables

A. Variables dependientes

- Rendimiento porcentual de la celulosa bacteriana

Definición porcentual: peso de la celulosa bacteriana que se obtiene una vez realizada la fermentación, restando el peso del inóculo inicial.

Definición de operacional: Peso en seco de la celulosa recolectada de cada uno de los ensayos con distintas fuentes de carbono, concentración y con relación al tiempo de fermentación.

Definición operacional: Cantidad de fuente de carbono en gramos: glucosa, sacarosa, así como el monitoreo del tiempo y temperatura para al final por medio

de las pesadas calcular el scoby obtenido en cada una de las alteraciones presentadas.

MARCO TEÓRICO

A. Celulosa

La celulosa es la molécula biológica de mayor abundancia en la tierra, éste componente no solo se encuentra mayoritariamente en las plantas, existen microorganismos y algunas algas marinas que la sintetizan de manera natural (Jonas y Farah,1998). La celulosa está conformada molecularmente de 2000 a 14000 unidades de β (1,4) glucosa en cadenas ramificadas, además de presentar formas cristalinas, dando polimorfismo de la célula (Chávez et. al.,2004).

Existe una serie de maneras en la cual se puede obtener celulosa, actualmente se maneja una campaña mundial de ecología, desplazando a la tala de árboles o algunos otros recursos naturales que causan un impacto social y ecológico importante, dentro de los cuales se pueden mencionar:

- Por síntesis química in vitro utilizando fuentes de carbono como glucosa o sacarosa
- De origen vegetal
- Por síntesis enzimática
- Del reino fungi

La celulosa es uno de los materiales más utilizados en diversas áreas de las empresas, principalmente en la industria papelera, textil, alimenticia, farmacéutica entre otras que utilizan sus derivados como empaques en diferentes presentaciones, sin dejar de lado su aplicación en áreas de la medicina y en investigaciones como en ésta se muestra.

B. Celulosa bacteriana

La celulosa bacteriana es un polímero producido por microorganismo propios de los géneros *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacter* y *Sarcina* (Jonas y Farah,1998).

Su estructura está formada a base de enlaces covalentes de carbono formando así cadenas glucanos lineales, estas son asociadas a las fuerzas de Van der Waals.

La celulosa bacteriana es similar a la celulosa vegetal, en cuanto a su conformación química, pero presenta diferencias físicas y estructurales, es importante mencionar el grado de pureza que presenta, ya que no cuenta con contaminantes naturales como la hemilcelulosa y la lignina, además de su alto grado de cristalinidad.

Los monofilamentos pueden tener un ancho de 20 a 60 nm una vez completada la cristalización en la unión completa de los enlaces, a ésta red se le llama cristalización, dando origen a una red tridimensional característica de la celulosa bacteriana.

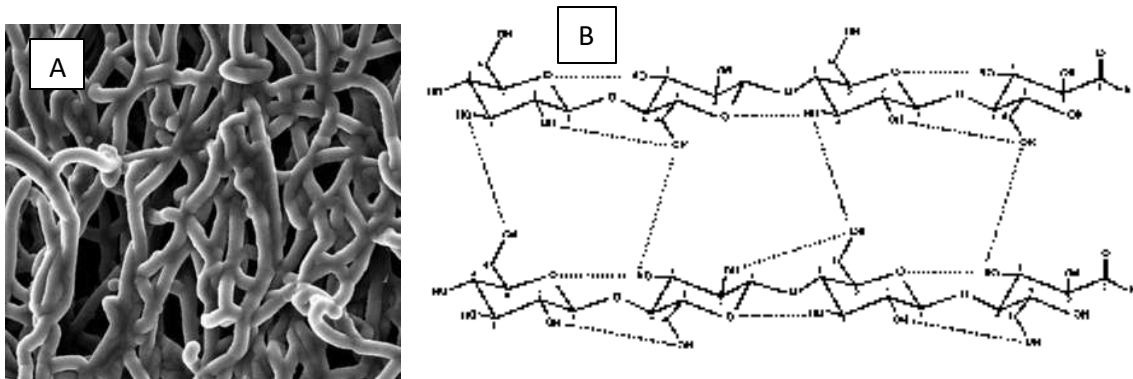


Figura I (A) Imagen de la estructura de la celulosa bacteriana por MEB (B) Enlace intra-hidrógeno de la celulosa bacteriana (L., Santiago M. A 2023)

La celulosa bacteriana tiene un sinfín de ventajas respecto a la celulosa vegetal, la primera y más importante es que es biodegradable y no se necesita la tala de árboles para su producción, no es tóxica, no provoca alguna reacción alérgica, además de ser biocompatible (Pineda, Caicedo, Martínez, 2012).

En la siguiente tabla veremos la comparación de la composición de las diferentes celulosas obtenidas de a partir de materias primas distintas a la nuestra, observando que el rendimiento de la celulosa bacteriana es mayor, así como su nivel de pureza.

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

Tabla I. Contenido de celulosa de diferentes fuentes vegetales en comparación con la celulosa bacteriana (Adaptado de Klemm et al., 2019).

C. Scoby

La palabra scoby es de las siglas en inglés Symbiotic Consortium of Bacteria and Yeast (cultivo simbiótico de bacterias y levaduras) es una masa celulósica plana, su forma varía dependiendo el recipiente donde se realizó la fermentación, en diversas partes del planeta también es conocido como hongo chino o científicamente como *Manchurian fungus*, éste es usado como medio de inoculación para la fermentación, ya que en éste medio de encuentra una serie de bacterias y hongos que hacen la biosíntesis de la fermentación del té verde para la producción de la kombucha. (Granda y Esturpiñám, 2019)

Existe una serie de investigaciones y debates sobre el porqué de la producción de scoby en la parte superior del medio. Uno de los más aceptados es que los microorganismos crean esto como barrera para evitar contaminantes biológicos como lo es la lignina o la hemilcelulosa, u objetos extraños en el caldo de cultivo, interrumpiendo así su fase logarítmica y reacciones de la biosíntesis misma, además de que se protegen de la luz solar principalmente, que como que afecta su proceso con una exposición directa a la luz, es una de las razones principales de que ésta celulosa sea de color marrón-amarillento (Aguilar, A. M 2020)

Como ya se revisó, en el scoby existen microorganismos propios del medio de cultivo que llevan a cabo ésta tarea entre los cuales podemos mencionar a dos de los más importantes, tales como *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacter* y *Sarcina* éstas pertenecen al tipo de bacterias del ácido acético, por lo que pueden sintetizar ácido acético por medio de las fuentes de carbono o alcohol etílico, por ello derivan productos como: vinagre o celulosa (Fuentes et al.,2003)

D. Kombucha

La Kombucha es una bebida que durante siglos ha sido considerada como una bebida con propiedades medicinales, fue elaborada por primera vez en china, su elaboración data del año 202 a.C y se propagó por el mundo en el año 414 d.C, esto después de que el médico Kombu se diera cuenta de sus propiedades curativas, con la cual alivió los problemas digestivos del emperador japonés Inkyo y fue conocida como “el elixir de la eterna juventud” ya que gracias a sus propiedades una vez consumida desintoxica el cuerpo, lo que es de suma importancia teniendo el conocimiento a los grados de intoxicación al cual estamos sometidos día con día, además de que la alimentación así como la producción agrícola no son las mejores.

Existen un sinnúmero de investigaciones orientadas a ésta bebida, pero surgieron dos corrientes importantes las cuales son: fermentación de kombucha como bebida no alcohólica alejada de aditivos sintéticos y saborizantes, así como la producción de celulosa o scoby, ésta con el fin de ayudar a sustituir el plástico, así como la elaboración de productos de curación. (MAPFRE. 2022)

E. Condiciones de cultivo

La previa preparación del material y el medio de cultivo es un punto fundamental, ya que si existe algún error en los gramos o incluso la mala

esterilización traerá consigo un resultado nada favorable, tales como la contaminación y proliferación de microorganismos ajenos a los del medio deseado en la investigación.

Todo comienza con la esterilización de los frascos, la kombucha es fotosensible, por ello se necesita manejar equipos de fermentación ambar o en su defecto material envuelto en papel aluminio, una vez caliente el agua destilada se coloca en frascos donde se llevará la infusión del té verde, una vez frío se puede agregar el cultivo.

La fuente de carbono es cuestionada por diferentes investigadores, pero las más factibles son: sacarosa y glucosa, aunque la mejor producción es glucosa a 35°C durante 11 días de fermentación, el pH es inicialmente de 3 finalizando con 1.8 (Moniri et al, 2017).

Durante la fermentación se mantiene en reposo sin agitación, además de mantener a temperatura constante, el uso de las diferentes temperaturas nos dio la estandarización adecuada, así como las concentraciones.

Existen 2 tipos de técnicas de fermentación.

F. Técnicas de fermentación

Las técnicas para la producción de celulosa son el cultivo estático y el agitado, en ambas se obtiene la celulosa con morfología diferente.

En la técnica de agitado se obtiene celulosa en formas amorfas, regularmente es empleado en reactores industriales giratorios airlift, pero la productividad de celulosa es demasiado baja en comparación al estático, esto ocurre ya que el sustrato es utilizado por células que no producen éste polímero (Carreño, Caseido y Martínez, 2012).

La técnica de cultivo estático la celulosa se obtiene en forma de gel, en una especie de nata de consistencia gelatinosa, en la cual la celulosa es un total del 1%, el aumento del estado logarítmico aumenta a través del oxígeno, solo los microorganismos que se encuentran cerca de la interface aire/medio mantienen su

producción, manteniéndola activa y produciendo celulosa, cada capa se sobrepone una tras otras como una especie de cebolla, con el paso de la fermentación aumenta poco a poco su grosor, el principal problema de ésta técnica es el tiempo prolongado de fermentación y para mayor cantidad se requiere mayor volumen y espacio. (Aguilar, A. M. 2020)

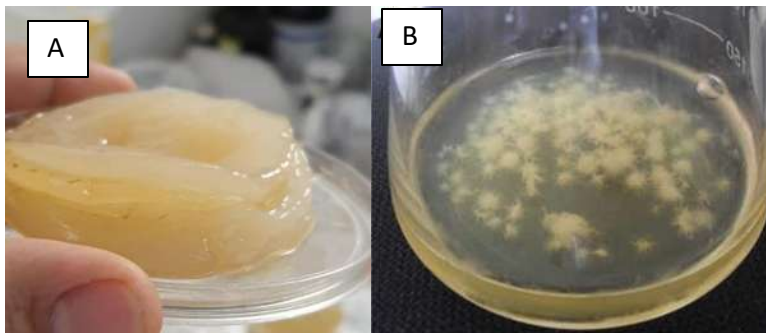


Figura II. (A) Celulosa en cultivo estático. (B) Celulosa en cultivo agitado

G. Fuentes de carbono

Para la producción de celulosa es indispensable contar con una fuente de carbono para poder desarrollar un buen producto mediante la síntesis de glucosa por medio de la vía de la gluconeogénesis, la mayoría de las bacterias utilizan sacáridos o carbohidratos como los monosacáridos, disacáridos, polisacáridos y oligosacáridos, además de que para que se lleve a cabo ésta síntesis deben estar presentes compuestos como; nitrógeno, oxígeno, azufre, fósforo, así como una serie de iones como el hierro, sodio, magnesio, potasio y calcio, esto para asegurarse una buena nutrición en el medio. En caso de existir un exceso de glucosa causaría una inhibición en la producción de la celulosa debido a la acumulación de ácidos ceto-glucónicos y causa la alteración del pH haciendo un medio básico (Aguilar, A. M. 2020)

En la siguiente tabla se mencionan las fuentes de carbono en su clasificación, así como sus ejemplos.

Fuentes de carbono	Ejemplos
Monosacáridos	Glucosa, fructuosa, galactosa

Disacáridos	Sacarosa (azúcar de mesa), lactosa, maltosa
Polisacáridos	Almidón, glicógeno (almidón animal), Celulosa

Tabla II. Fuentes de carbono y sus ejemplos de los cuales se pueden utilizar como fuente de energía para la fermentación de la kombucha de acuerdo a la necesidad o disponibilidad.

H. Biosíntesis de la celulosa

Las bacterias del genero *Acetobacter* producen celulosa a través de fuentes de carbono como sacarosa, glucosa, manitol (Aguilar, A. M. 2020). Este proceso se lleva a cabo por dos vías anfibólicas: el ciclo de pentosas fosfato y el ciclo de Krebs (Moniri et al, 2017).

En la primera esta se lleva a cabo la conversión de la fuente de carbono a uridin difosfato, éste es el sustrato con el que se produce la celulosa, en la segunda etapa se lleva a cabo la formación completa de la celulosa en el medio de cultivo, así hasta el agotamiento de la fuente de carbono y en la fase de decaimiento de los microorganismos. (Aguilar, A. M. 2020)

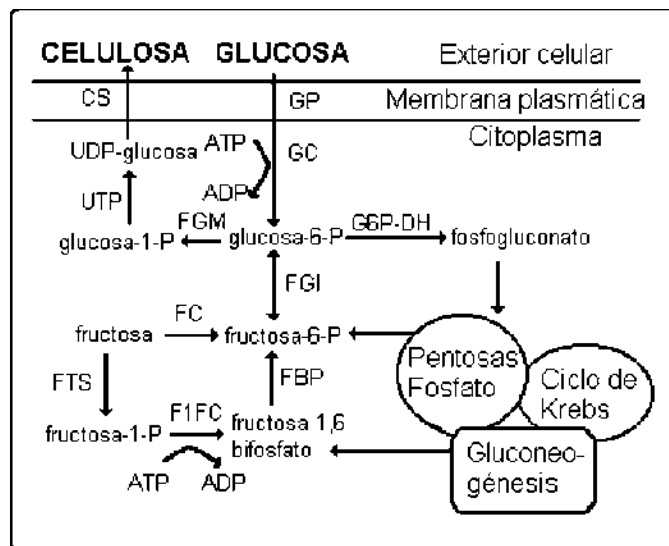


Figura III. Rutas metabólicas para la síntesis de la celulosa (Zaar K 1977).

Como bien se mencionó, la participación de éstos ciclos es de suma importancia, ya que en cada uno de ellos se lleva a cabo un paso vital para la producción de la celulosa, el ciclo de las pentosas fosfato cumple con la misión de oxidar los carbohidratos, mientras que el ciclo de Krebs oxida los ácidos orgánicos. Las bacterias son capaces de producir glucosa nuevamente a partir de sustratos como el glicerol, así como utilizando otros intermediarios del ciclo de Krebs mediante gluconeogénesis (Zaar K 1977)

La mayor parte de la energía es obtenida del metabolismo aerobio, por ende, la cadena respiratoria es de suma importancia para la producción de celulosa bacteriana (Ross., M. 1991)

I. Uso y aplicaciones de la celulosa

La celulosa es utilizada en una amplia gama industrial, tal como se muestra en la siguiente tabla, siendo las de mayor relevancia.

Aplicaciones de la celulosa en las diferentes áreas
Farmacéutica
Medicina
Alimenticia
Textil
Electrónica
Cosmética
Industria papelera
Biotecnología e investigación

Tabla III. Áreas de la industria donde se utiliza la celulosa para producción de materiales.
(Celulosa, s.f. 2020)

La celulosa es utilizada en diversas áreas, ya que por sus propiedades y composición es aprovechada, desglosaremos la aplicación en cada una de las áreas ya mencionadas.

En la farmacéutica se utiliza como agente adhesivo en las tabletas o en la formación de cápsulas, así como para dar cuerpo a medicamentos en emulsión. En la medicina se han realizado diversas investigaciones, ya que se ha demostrado que la celulosa puede ser una buena opción para sustituir la piel por un momento temporal a causa de quemaduras, úlceras o complicaciones cutáneas, en la actualidad es una de las áreas con mayor interés médico en la celulosa bacteriana, que como ya se mencionó trae consigo una opción para la regeneración del tejido cartilaginoso (Aguilar. A. M. 2020)

En el área alimenticia la celulosa se sirve como un postre llamado "nata" que se agrega a bebidas, yogures y gelatinas, el sabor puede variar dependiendo de la forma de fermentación, así como de las técnicas empleadas, además de esto es que los alimentos tienen un sabor marcado y las calorías son menores (Lin y Lin 2006). También se han desarrollado modelos para embutidos, pesto con la finalidad de eliminar los residuos plásticos de nuestro día a día que son de un solo uso, además de que se demostró que la vida de anaquel se alarga al usar este empaque de celulosa (Zun et al., 2010)

Los avances en el área textil se han desarrollado modelos para la creación de una imitación de cuero a base de celulosa, siendo así empáticos con la vida de los animales sacrificados para la obtención de su piel, así como de recurrir menos al uso de los recursos naturales que cada vez se ven más afectados por la nula moderación de los mismo. Siendo así una buena alternativa además de ética. Con relación a la electrónica, se han creado modelos de celulosa bacteriana en la cual se agregan algunos metales en la estructura de la celulosa, ha resultado una membrana con alta conductibilidad eléctrica, algunos modelos poco desarrollados y que aún siguen en investigación son los traductores acústicos (Aguilar A. M. 2020)

La aplicación de la celulosa se extiende a las áreas como la cosmetología, donde es utilizada como agente estabilizante en las emulsiones, así como en la creación

de uñas postizas, ya que se convierten de cierta manera en una parte ecológica, ya que no se emplea el plástico como se hacía anteriormente (Paximada, P.K. 2016)

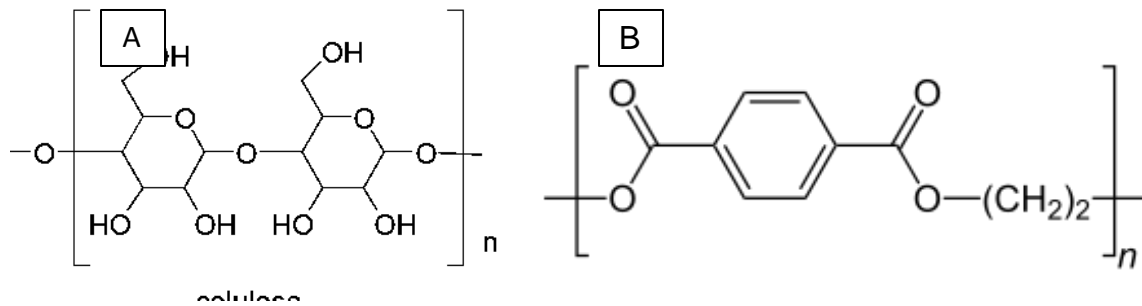


Figura IV. (A)Estructura química de la celulosa bacteriana. (B) Estructura química del Tereftalato de polietileno (plástico común) (Celulosa, s.f).

La estructura de la celulosa con respecto a la del plástico (tereftalato de polietileno) es un tanto pequeña, más se han mejorado los estándares logrando así la resistencia similar al plástico con la gran diferencia del impacto ambiental, ahora hablaremos de una de las aplicaciones masivas en el mundo con la celulosa.

La industria del papel es de las más grandes e importantes del mundo, produciendo 408.6 millones de toneladas de papel año (Sector. P.2021) sienta así un problema ecológico de importancia mundial, ya que para producir papel del tradicional que usamos día con día se requiere la materia prima principal que es la celulosa, pero esta es obtenida de los árboles, dando lugar a una deforestación para así poder cubrir la demanda mundial de papel, se calcula que al año 4.000 millones de árboles son talados, sumándole la pésima forma de reciclar en distintos países, por ello se trabaja con celulosa bacteriana, el problema de ésta es que el tiempo es muy largo y la producción se ve reducida en un porcentaje considerable, pero esto no ha detenido las investigaciones, ya que el uso de la celulosa bacteriana es amigable con el medio ambiente y no se ven afectados los recursos naturales de manera importante como en la forma tradicional (MAPFRE. 2022).

Respecto a la biotecnología e investigación son muchas las tesis de diferentes grados académicos que hablan sobre el interés científico de la celulosa bacteriana, ya que es la ciencia del futuro, es importante resaltar los avances realizados durante

ésta investigación ya que se estandarizó cada una de las temperaturas y concentraciones con respecto al tiempo.

MATERIALES Y METODOS

3.1 Diseño de la investigación

Las muestras se analizaron por triplicado utilizando un análisis de varianza (anova) y comparación de medias por Tukey. Como primera parte fue estructurado un diseño de la investigación, contemplando el material, equipos, materia prima y medio de cultivo (microorganismos) el cual se muestra en la imagen IV, en un esquema general

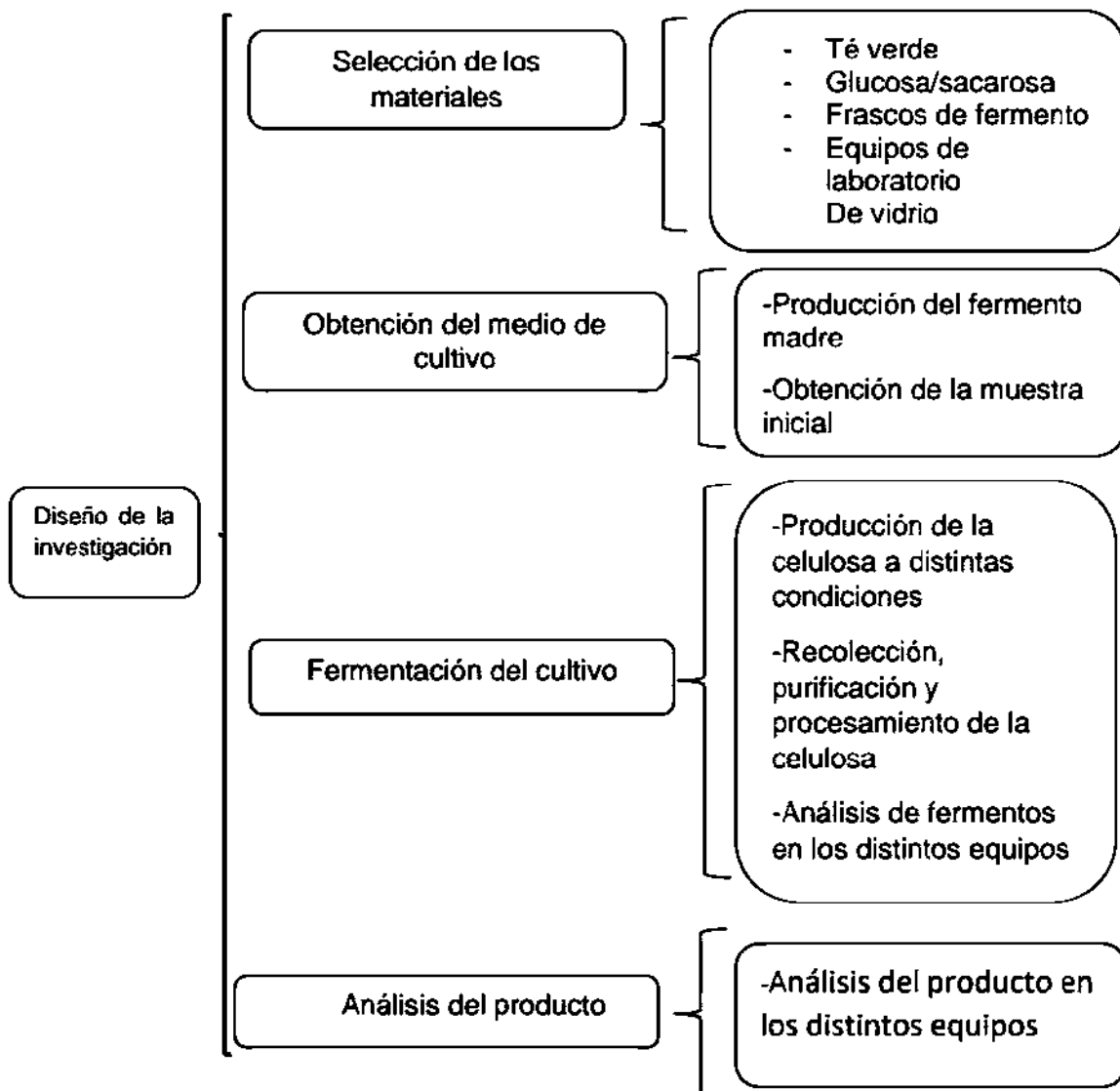


Tabla IV. Diseño de investigación

3.2 Selección de materias primas

El té que se eligió es un té verde comercial que procede de la *Camellia sinensis L*, es originaria del norte de la india, por sus propiedades resultó ser una pieza muy importante para ésta investigación, no hubo variante alguna para mantener un control bien estandarizado, así como el azúcar de la marca “La Posada” siendo ésta refinada, como ya se mencionó, no se modificaron las marcas para no alterar resultados.

3.2.1 Selección de materiales y equipos.

La selección de materiales se llevó a cabo de acuerdo a las necesidades que se fueron presentando, durante las pruebas se utilizaron recipientes de cristal con una capacidad de 250 ml, tela de venta comercial como la mantilla blanca de algodón, y ligas de plástico para el cierre de los frascos. Además, se utilizaron distintos equipos para el desarrollo de éste proyecto como; estufa de calentamiento de la marca (felisa), horno de secado (ECOSHEL), balanza analítica (EMYR), potenciómetro (MILWAUKEE), espectrofotómetro (VELAB), refractómetro (ABBE), colorímetro (BYK), así como materiales de cristalería como; matraces Erlenmeyer, vasos de precipitados. Los reactivos utilizados de grado analítico fueron: agua destilada (TQE), hidróxido de sodio (MEYER), ácido peracético (MERCK), almidón (MEYER), glicerina, etanol (J.T.BAKER).

3.3 Obtención del medio de cultivo

3.3.1 Obtención del té de Kombucha

Inicialmente se preparó un fermento madre, utilizando los mismos materiales, pero a mayor concentración, siendo 4 litros de agua, 7 bolsas de té, 450 gr de sacarosa y 300 gr de inóculo previamente obtenido de una marca comercial, posterior a esto, se deja fermentar hasta obtener las primeras capas de celulosa, cada ensayo lleva un volumen de 18.1 ml de té de arranque, 18.1 gr de inóculo, 18.1 gr de fuente de carbono y 1 sobre de té verde (esto por la capacidad del recipiente en el que se desarrolló), estas cantidades en específico fueron necesarias para desarrollar la

investigación durante el tiempo requerido, para ello se trabajó con una muestra de kombucha previamente prepara de un productor local de la ciudad de Morelia.

3.3.2 triplicado de muestra inicial

Cada uno de los frascos de cristal fueron previamente esterilizados con agua, jabón, etanol y colocados en un horno a 70°C, durante 15 minutos.

Se colocaron en cada frasco de 125 ml un sobre de té verde, una vez fría la infusión se agregaron 18.1ml de Kombucha, 18,1 gr de sacarosa, 18.1 gr de scoby, y finalmente se afora a 125 ml con agua destilada a temperatura ambiente cada uno de los frascos tal como se muestra en la tabla V.

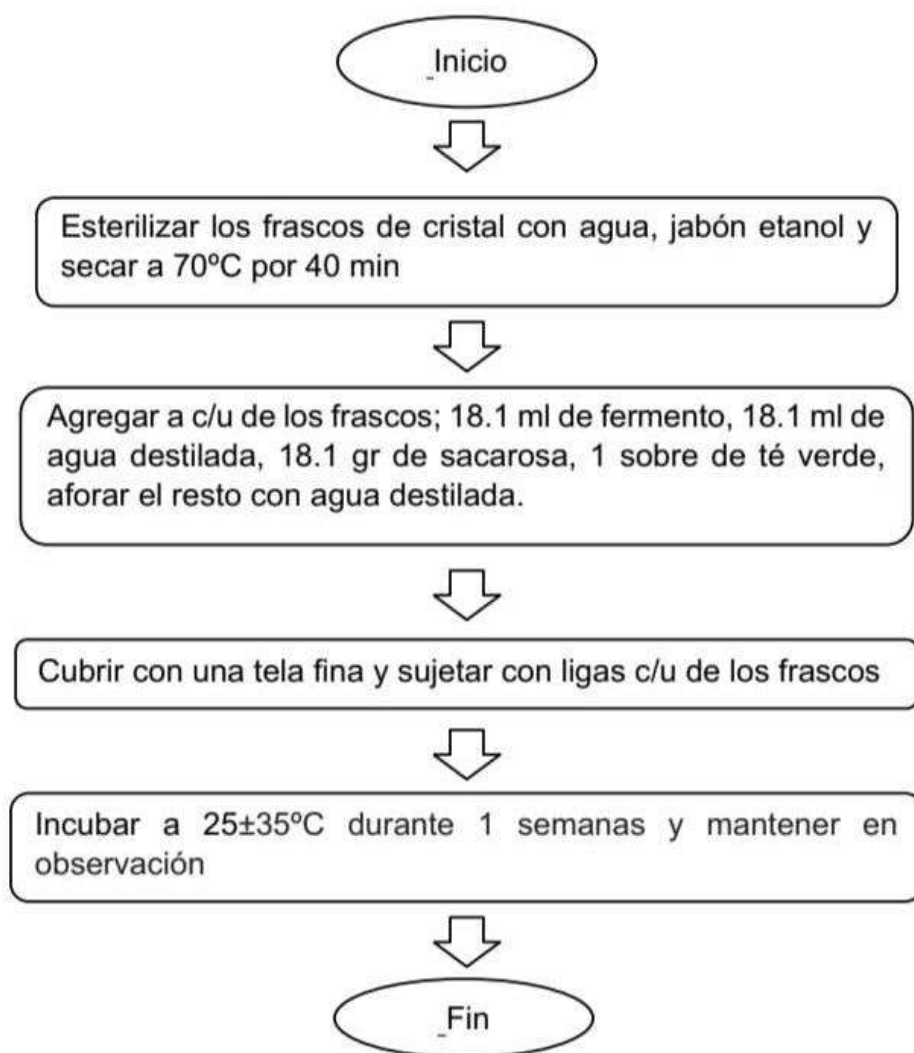


Tabla. V Proceso de muestras iniciales.

3.4 Producción de celulosa con diferentes tratamientos

Inicialmente se utilizó sacarosa y se incubó a 25°C, posteriormente se cambiaron las condiciones de temperatura, para ello se estandarizaron 3 diferentes temperaturas, y la fuente de carbono fue sustituida por glucosa ya que tras varios análisis e investigaciones se determinó que el uso de glucosa aumentada la producción de scoby en un tiempo similar al de la sacarosa, para ello se mantuvieron en observación todo ello para seleccionar cual es la temperatura óptima, así como la fuente de carbono adecuada, y analizar con cual obtuvimos mayor producción de celulosa.

Para ello las temperaturas analizadas fueron; 25°C (temperatura ambiente), 30°C y 35°C, el proceso se manejó por triplicado, se agregó a cada recipiente; un sobre de té verde, una vez fría la infusión se agregaron 18.1ml de Kombucha, 18,1 gr de glucosa, 18.1 gr de scoby, y finalmente se afora a 250 ml con agua destilada a temperatura ambiente cada uno de los frascos, cada ensayo fue sometido a las 3 distintas temperaturas con diferente fuente de carbón.

Ensayo de sacarosa a 25,30 y 35°C

El proceso por el cual se lleva a cabo la preparación del cultivo es un tanto sencilla, todo esto se representa a través de diagrama de bloques con las concentraciones y temperaturas correspondientes a cada ensayo

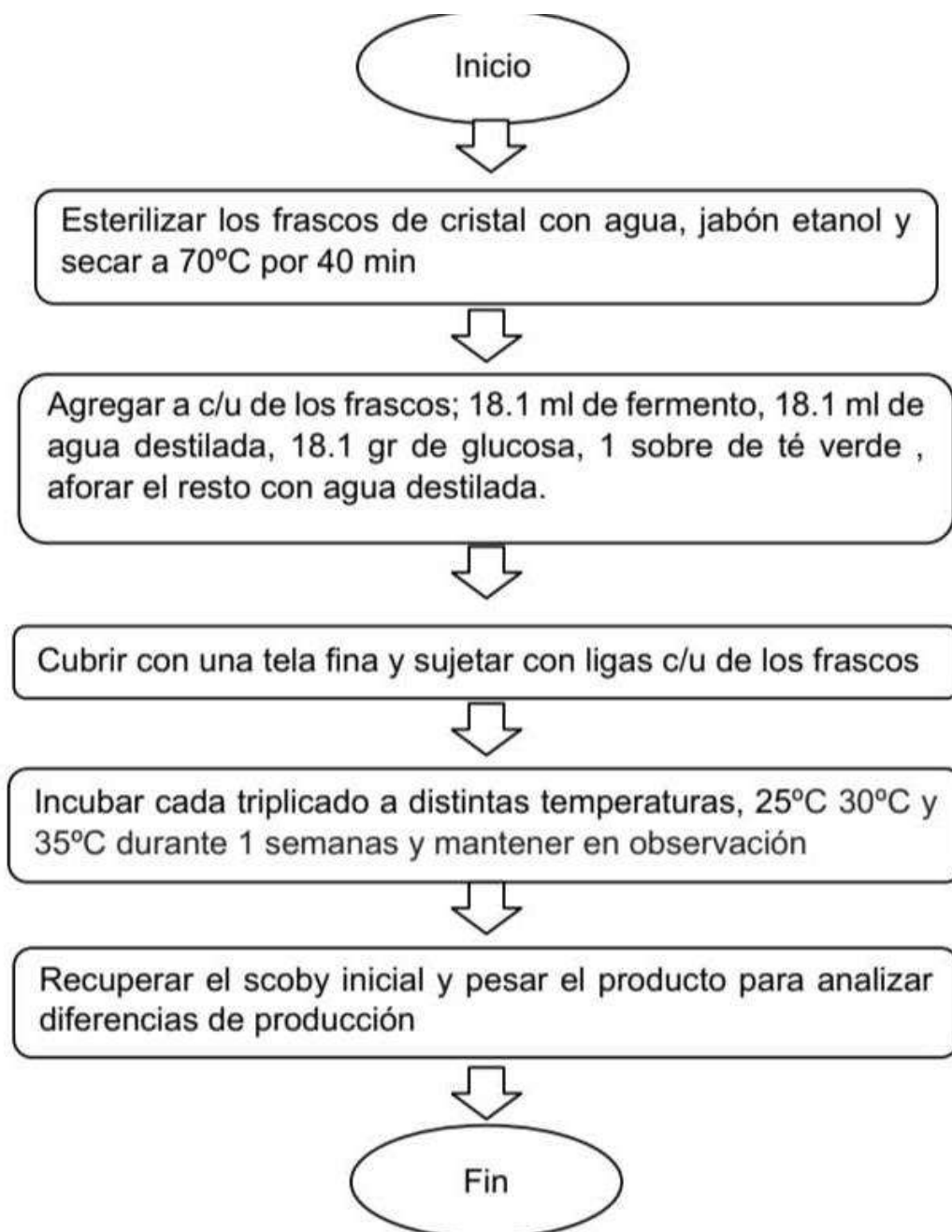


Tabla VI. Fermentación a diferentes temperaturas y sacarosa

Ensayo de glucosa a 25,30 y 35°C

Las modificaciones en las concentraciones, temperatura y tiempo marcan una producción significativa en la obtención de la celulosa, más su proceso de elaboración es el mismo. Todo esto a manera de diagrama de bloques especificando cada una de ellas.

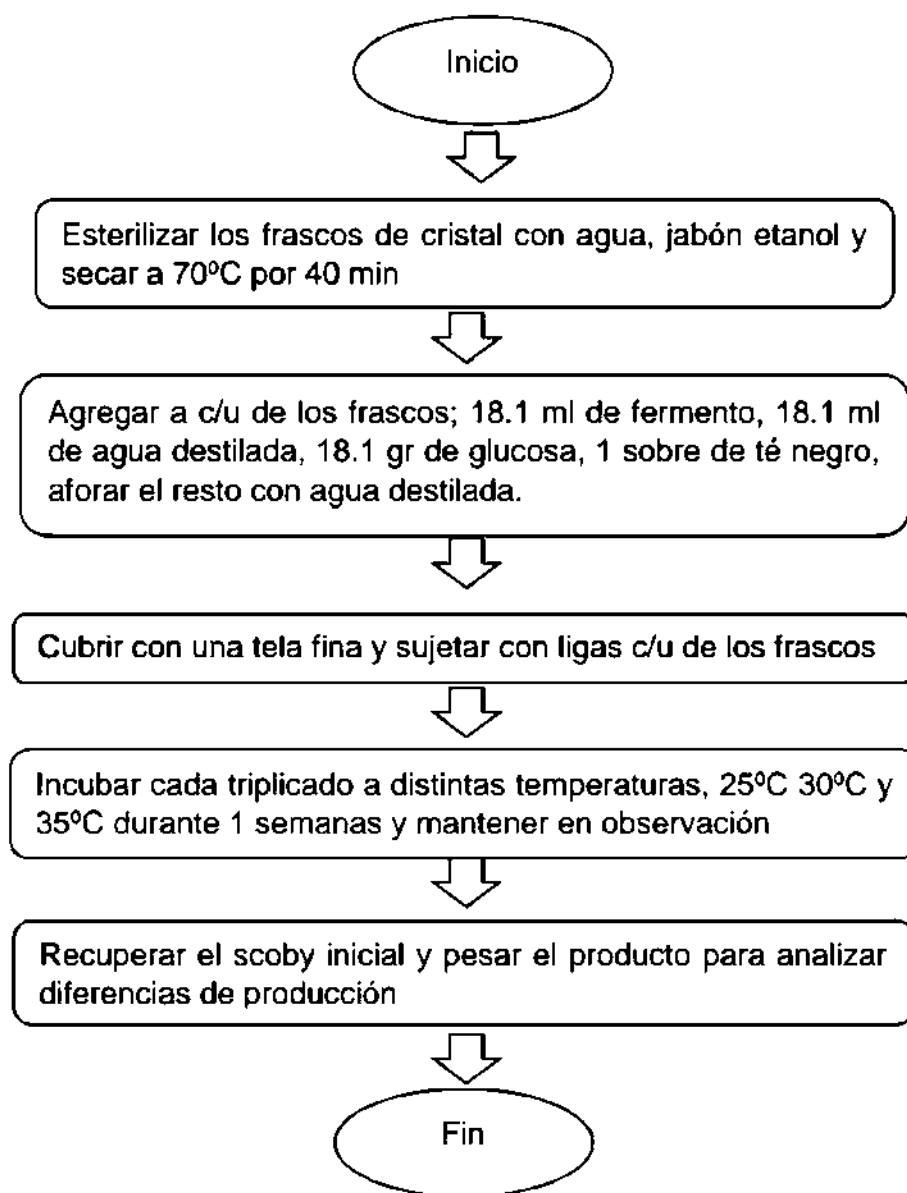
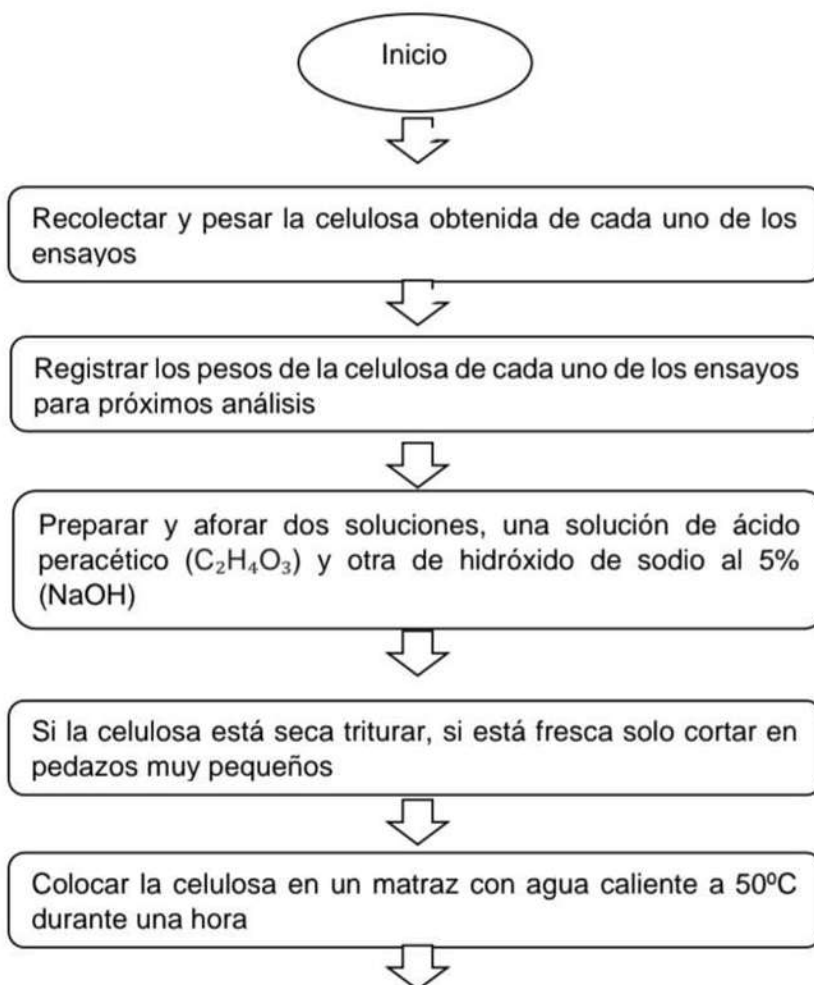


Tabla VII. Proceso de fermentación con glucosa y diferentes temperaturas.

3.4.1 Recolección y procesamiento de la celulosa

Una vez pasado el tiempo 2 semanas consecutivas, se procedió a la recolección del scoby, todos los pesos se tabularon de acuerdo a las lecturas, los cuales se realizaron cada 3 días para monitorear los avances progresivos, así como las propiedades fisicoquímicas del medio de cultivo. Para la purificación se llevó acabo el secado de la celulosa a 70°C durante 24 horas, posteriormente se trituró y se colocó en agua caliente, una vez realizado éste paso se agregó a hidróxido de sodio al 5% **durante 4 horas a 60°C**, se filtró y por último se agregó a una solución de ácido peracético durante 24 horas a 50°C con agitación contante con ayuda de un agitador magnético a (800 rpm) y con un monitoreo contante de la temperatura. Finalmente se recuperó la celulosa ya purificada para ser secada y pesada nuevamente en cada uno de los ensayos se realizaron éstos pasos.



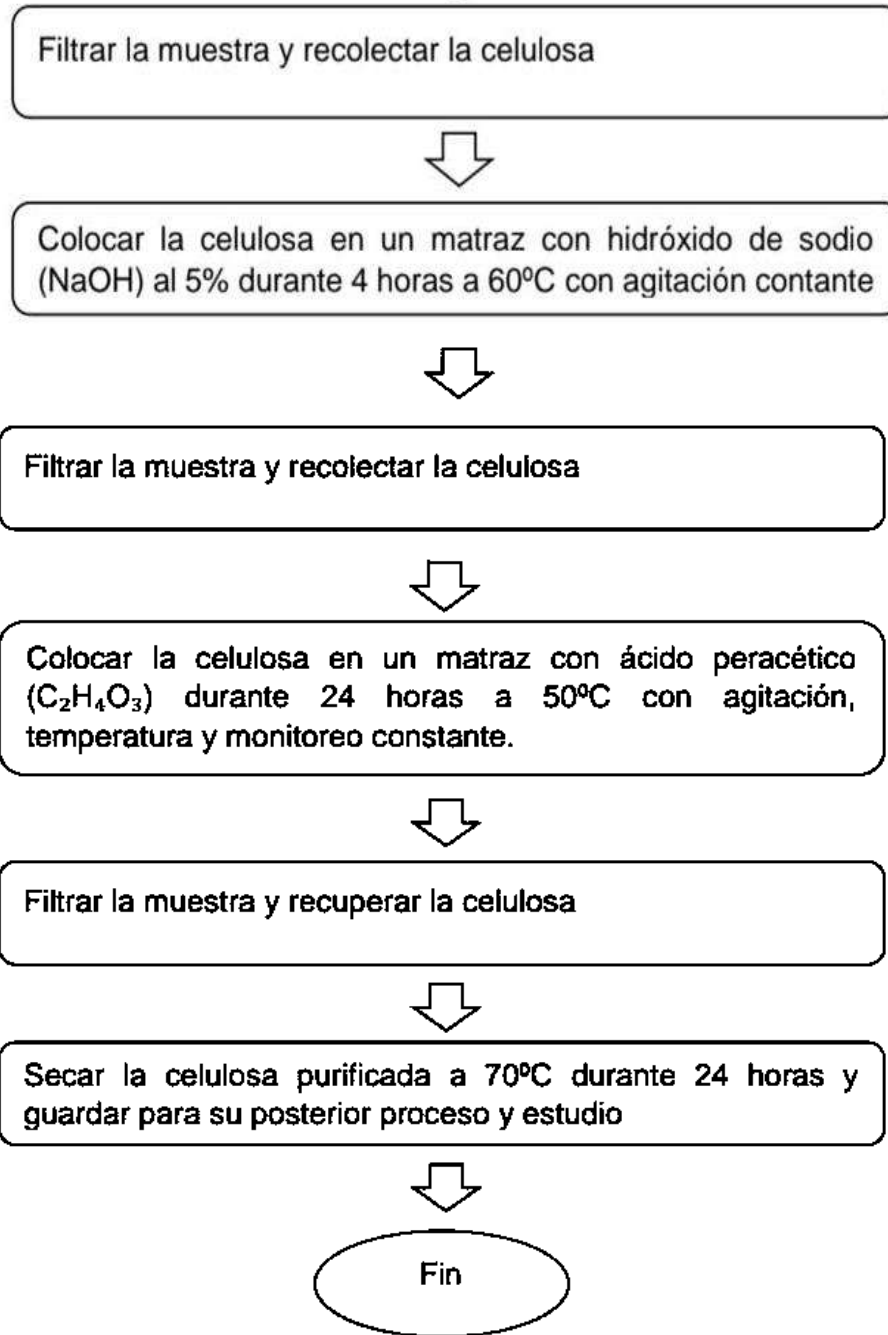


Tabla VIII. Purificación de la celulosa.

3.5 Análisis de las propiedades fisicoquímicas del scoby

Una vez analizados los datos que se requirieron se procedió a la selección de los diferentes equipos, inicialmente se usó la estufa, en éste equipo se mantenían los frascos en fermentación a una temperatura constante y estable esto ayudó a llevar los registros de la temperatura correcta para la fermentación y producción adecuada, posteriormente se utilizaron una serie de equipos como lo fueron; refractómetro, espectrofotómetro, balanza analítica, potenciómetro, plancha de calentado.

3.5.1 Determinación del pH

Se realizó de manera directa con el uso de un potenciómetro (MILWAUKEE MAX151), ésta lectura se realizó de manera individual a cada uno de los ensayos cada 3 días. Se llevó un registro donde se observó el cambio de pH respecto a los días, éste parámetro se llevó acabo con monitoreo contante, hasta obtener los cambios exactos por día.

3.6 Análisis del material

Una vez que se realizó todo el procedimiento de producción, purificación y secado se analizaron las muestras de scoby seco, para posteriormente analizar sus propiedades y elaborar productos con la celulosa.

3.6.1 Análisis del peso

Se realizaron las lecturas del peso en éste apartado, se llevó acabo con el scoby fresco, para ello cada 3 días se recolectaba la biomasa nueva y se almacenó en empaques marcados e identificado para cada ensayo, posteriormente se obtuvo el pesó al final de la producción en el día 9.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El té fermentado de kombucha y su respectivo scoby se obtuvieron replicando las condiciones indicadas por su productor, 4 litros de agua, 450 gr de sacarosa y 300 gr de inóculo previamente obtenido de una marca comercial, posterior a esto, se deja fermentar hasta obtener las primeras capas de celulosa. para incrementar el volumen de muestra y obtener una alícuota central y primaria. En un primer experimento se realizó una evaluación de la fuente de carbono utilizada para el consorcio microbiano y su impacto en la producción del scoby. Se utilizó glucosa, sacarosa y tres temperaturas una alta (35 °C), una media (30 °C) y una baja (25 °C). Se escalaron las cantidades (tabla IX) con el fin de optimizar tiempos y espacio. La masa de scoby (imagen V) producida se determinó después de 28 días de incubación.

Condiciones generales a escala	
Fuente de Carbono (sacarosa)	18 gr
Té de arranque	18 gr
Bolsa de té	1 bolsa (1.5gr)
Scoby de arranque	18 gr

Tabla IX. Condiciones generales para producción de celulosa bacteriana

Muestra	Identificador	Fuente de Carbono	Temperatura	Peso Scoby total final
Kombucha	S1	Sacarosa	30°C	43.23 ±2.91 ^B
Kombucha	G1	Glucosa	30°C	54.75 ±3.75 ^A
Kombucha	S1	Sacarosa	35°C	47.50 ±2.46 ^B
Kombucha	G1	Glucosa	35°C	61.16 ±2.75 ^A
Kombucha	S1	Sacarosa	25°C	32.10 ±0.62 ^A
Kombucha	G1	Glucosa	25°C	35.00 ±3.8 ^A

Tabla X. Influencia de la fuente de carbono en la producción de Scoby. Las medias no conectadas por la misma letra, en la misma columna, son significativamente diferentes. (T Student $p < 0.05$). Resultados obtenidos de 3 repeticiones.

En la tabla (X) se observó que el efecto de usar glucosa se debe a que es el principal metabolito con el que fabrican la celulosa las bacterias y al usar sacarosa requerirían de un paso más en la hidrólisis de la sacarosa, la sacarosa es un disacárido y ocupa una disacaridasa, además de que existe la simbiosis del scoby de con las levaduras las cuales hidrolizan la sacarosa, ahorrando todo éste proceso a las bacterias del género Acetobacter. Estos resultados coinciden con lo reportado u observado por Armando Matoso Aguilar en su artículo “la celulosa bacteriana, un material del futuro” en el cual se trabaja con diferentes concentraciones, temperaturas y fuentes de carbono, el cual demuestra que se puede hacer uso de fuentes de glucosa como los desechos de frutas o verduras, que con ayuda de los diferentes microorganismos se lleva a cabo una simbiosis importante para ésta fermentación, coincidimos en que la temperatura adecuada es de 35 grados centígrados, ya que se trata de microorganismos mesófilos, y el control de ésta temperatura es primordial, además de que la mejor forma de realizar la fermentación es de manera estática, no agitada, con esto obtendremos celulosa más sólida y con una estructura para realizar las investigaciones pertinentes con éste material.

Con relación a la cantidad en peso de celulosa que se obtuvo, coincide con artículos tales como “técnicas de fermentación y aplicación de celulosa bacteriana” de la autora Luz Dary Carreño Pineda, la cual habla de la importancia del buen medio de cultivo, ya que como hablamos anterior mente, el exceso de la fuente de carbono trae consigo una inactivación de la biosíntesis de la celulosa, ya que ésta afecta el medio por Ph haciéndolo más alcalino, y por ende la nula producción de celulosa y actividad microbiana.

Son muchos los artículos e investigaciones que hablan sobre la importancia y aplicaciones de la celulosa bacteriana, que es coronada como una alternativa nueva y e incluso es llamada “el material del futuro” ya que sus aplicaciones son tan diversas en áreas como medicina, mecánica, eléctrica, tal como lo dicen los autores Sara M. Santos y José M. Carbajo en su artículo “Celulosa bacteriana” en el cual coincidimos en la importancia de ésta investigación, así como en los

parámetros a medir para la obtención de pureza, aquí se habla a grandes rasgos sobre la determinación de celulosa con ayuda de rayos X.

En un segundo experimento utilizando glucosa y sacarosa como fuente de carbono se evaluó la influencia de la temperatura en la producción de celulosa, se utilizaron tres temperaturas una alta (35 °C), una media (30 °C) y una baja (25 °C). La masa de scoby (tabla X) producida se determinó después de 28 días de incubación. Se obtuvo como resultado que hay mejores rendimientos utilizando, Ruben Jaramillo L. en su artículo "Efecto de la sacarosa en la producción de celulosa por *Gluconacetobacter xylinus* en cultivo estático" así como la tesis de "producción de celulosa bacteriana a partir de diferentes fuentes de carbono" de la autora Sofía Tzorin Herrera abordamos y comprobamos éstos planteamientos, dejando marcado que debe ser a 35 grados y el límite de la obtención de celulosa será hasta que el medio comience a perder un exceso de agua, después de ello el ciclo de la biosíntesis de romperá y comenzará la fase de decaimiento bacteriana.



Figura V. Membranas de celulosa producidas (SCOBY)

Muestra	Identificador	Fuente de Carbono	Temperatura	Peso Scoby total final
Kombucha	S1	Sacarosa	25°C	32.10 ±0.62 ^B
Kombucha	S2	Sacarosa	30°C	47.50 ±2.46 ^A
Kombucha	S3	Sacarosa	35°C	43.23 ±2.91 ^A

Kombucha	G1	Glucosa	25°C	35.00 ±3.8 ^B
Kombucha	G2	Glucosa	30°C	54.75 ±3.75 ^A
Kombucha	G3	Glucosa	35°C	61.16 ±2.75 ^A

Las medias no conectadas por la misma letra, en la misma columna, son significativamente diferentes. (Tukey $p < 0.05$). Resultados obtenidos de 3 repeticiones.

Tabla XI. Influencia de la temperatura en la producción de Scoby

La diferencia de temperaturas entre 30 y 35°C no representa mucha diferencia, esto se debe a que son varias bacterias y género que habitan el inóculo y no es impactante el rango de temperatura, considerando que son bacterias mesófilas y pueden crecer en varios rangos de temperatura. Más el cultivar a temperatura ambiente, donde ésta temperatura es de 25°C, la fermentación es lenta y los resultados no consecutivos, esto ya que está vulnerable al cambio de clima, por

ende, es mejor el control de incubación.

Una vez obtenida la temperatura y la fuente de carbono con mejores resultados, los cuales son: Glucosa a 35°C se modificaron algunas condiciones las cuales fueron condiciones iniciales, exceso de té de arranque, exceso de glucosa y exceso de glucosa y té de arranque en diferentes experimentos y ensayos.

Se restringió como tiempo máximo de fermentación 12 días, se obtuvieron datos de pH y índice de refracción y scoby obtenido. La figura x muestra el incremento de peso de scoby generado a 12 días (tiempo máximo de fermentación que el volumen de ensayo permite), los experimentos se clasificaron como:

- N= condiciones iniciales
- T= exceso de té de arranque
- G= exceso de glucosa
- M= exceso de glucosa y té de arranque

Se observó que así mismo, de todas las variables analizadas el exceso de té de arranque parecería provocar un aumento significativo de scoby respecto a las otras muestras; sin embargo, en el modelo estadístico no se obtuvo diferencia respecto a las condiciones iniciales. Los datos encontrados o el comportamiento

son similar, menor o parecido, las condiciones en el medio en el cual se utilizó exceso de glucosa y té de arranque no fue significativo, ya que el resto de componentes presenten no fueron suficientes para alcanzar un resultado llamativo, ya que al comenzar con la evaporación parcial del agua, los microorganismos interrumpían el ciclo y comenzaban a morir, el incremento de la producción de scoby se debe a las condiciones adecuadas del medio, desde luego en relación al tiempo, pero para ello las fuentes de carbono, la temperatura con relación al tiempo de fermentación es lo más importante, ya que si se termina la fuente de carbono el tiempo es indiferente, y viceversa, todo éste control se lleva a cabo mediante la recolección del scoby

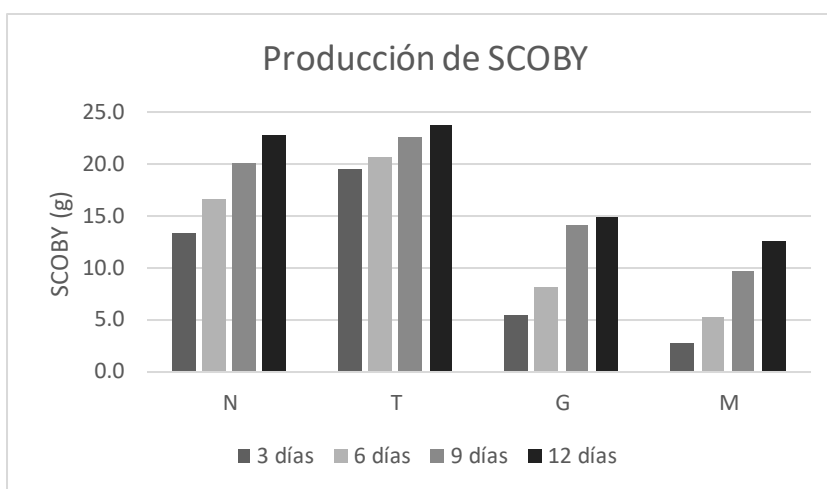


Tabla XI. Gráfico de las modificaciones en cada ensayo.

T= exceso de té de arranque. G= exceso de glucosa. M= exceso de glucosa y té de arranque. N= condiciones normales.

Muestra	Identificador	Temperatura	Peso Scoby total final	nD	pH
Kombucha	N	30°C	22.73 ±3.01 ^A	1.38 ±0.0 ^B	2.07 ±0.01 ^A
Kombucha	T	30°C	23.70 ±1.83 ^A	1.39 ±0.0 ^B	2.0 ±0.05 ^{AB}
Kombucha	G	30°C	14.84 ±2.55 ^B	1.43 ±0.03 ^A	2.0 ±0.03 ^{AB}
Kombucha	M	30°C	12.65 ±0.34 ^B	1.41 ±0.0 ^{AB}	1.97 ±0.01 ^B

Tabla XII. Influencia de las condiciones de fermentación en la producción de Scoby

Los valores de pH presentados en los ensayos se observan en la tabla XII. Se obtuvieron dichos valores como control del proceso, el pH es un parámetro importante en éste tipo de medio, ya que el ambiente que se necesita es ácido, de hecho conforme pasan los días de la fermentación aumenta considerablemente su acidez, ya que se trata de bacterias que producen ácido acético para cumplir con su proceso metabólico, además de que acondicionan su propio ambiente de crecimiento con los recursos necesarios presentes, si existe un pH básico éste proceso nunca se llevará a cabo, por ello la importancia del no exceso de glucosa en todos los casos el pH se encontró dentro del rango esperado entre 3 y 2, lo cual coincide por lo descrito por Rubén Jaramillo L. en su artículo " Efecto de la sacarosa en la producción de celulosa por *Gluconacetobacter xylinus* en cultivo estático"

Las membranas de scoby se purificaron, se secaron en forma de polvo y se sometieron a análisis de difracción de Rayos X (DRX) para compararse con una celulosa comercial marca Meyer®. Los gráficos DRX de los materiales preparados se muestran en la figura 2. Los difractogramas de celulosa obtenidos muestran tres picos visibles asignados a los planos cristalográficos (1-10), (110) y (200), correspondientes a los ángulos de difracción de 14.4°, 16.88° y 22.72°, respectivamente. Sin embargo, la intensidad de estos es mayor para la muestra de celulosa bacteriana con lo que se sospecha de una cristalinidad superior. También es importante recalcar la ausencia de picos a 12, 1° y 20, 8°, que son característicos de la celulosa tipo II, por lo que se sospecha que las muestras analizadas pertenecen a celulosa de tipo I.

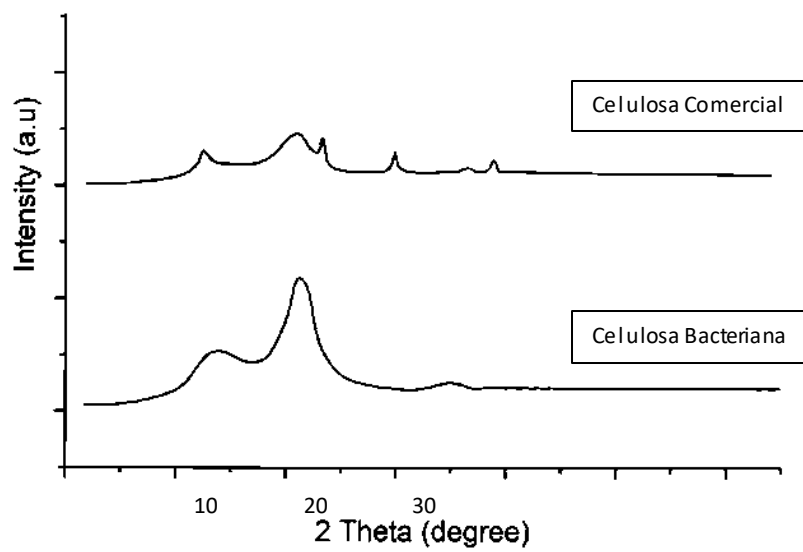


Figura VI. Difractograma de rayos X. Obtenido en colaboración con (M.C Rafael Contreras Chávez)

Conclusión

Durante el desarrollo de ésta investigación fueron revisados artículos científicos, tesis, tesinas y material relacionado a la misma, más no se hablaba de la temperatura y tipo de fuente de carbono exacta para obtener una buena cantidad de scoby.

Se obtuvo una varianza significativa en la obtención del scoby, con lo cual se comprobó que el uso de glucosa como fuente de carbono, así como la incubación de 35°C es la mejor forma de obtener una cantidad buena de scoby comparado con la sacarosa el incremento de scoby con glucosa de 10-15 gramos.

El uso de la celulosa bacteriana es una materia prima la cual ha modificado considerablemente el mercado, ya que se está usando para sustituir al plástico y para la producción de papel, con ello el control de la tala de árboles, por eso es llama "el material del futuro"

Bibliografía

- Jonas R, Farah LF (1998). Production and application of bacterial cellulose, *Polym Degrad Stab*, 59, 101-106.
- Chávez, J., Martínez, S. Contreras, M., Escamilla, E. (2004). Celulosa bacteriana, en *Gluconanocetobacter, xylinum: biosíntesis y aplicaciones*. Revista especializada en Ciencias Químico-Biológicas 7 (1), 18-27,
- 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
- Klemm, D., Schmauder, H. & Heinz, T. *Bacterial cellulose in Biopolymers Vol. 5 Polysaccharides from prokariots* (Alexander Steinbüchel Ed.) Wiley (2002).
- Granda, B., Estupiñán, L. (2009) Estudio de factibilidad para la elaboración de una bebida tipo kombucha a base de té de guayusa (*Ilex guayusa*). Universidad de Guayaquil. Ecuador. 103 págs
- Aguilar, A. M. (1578923045000). *La celulosa bacteriana: un material universal del futuro*. LinkedIn.com. <https://es.linkedin.com/pulse/la-celulosa-bacteriana-un-material-universal-del-matoso-aguilar>
- Fuentes, L., Tapia, A., Jiménez, S, et al. (2003) Bacterias acéticas: diversidad e interacción con las plantas. Universidad Autónoma de Puebla, México. 6 pags
- Pineda, L., Caicedo, L., Martínez, C. (2012). Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión. *Ing. Cienc*,16(8), 307-335.
- Moniri, M., Boroumand, A., Azizi, S., Rahim, R., Bin, A., Zuhainis, W., Navaderi, M., Mohamad, R. (2017). Production and status of bacterial cellulose in biomecal engineering. *Manometrials*, 7(9), 257. doi: <http://doi.org/10.3390/nano7090257>
- Zaar K (1977). The biogenesis of cellulose by *Acetobacter Xylinum*. *Cytobiol*,16, 1-15

- Ross, P., Mayer, R., & Benziman, M. (1991). Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiological Reviews*, 55(1), 35–58. <https://doi.org/10.1128/mr.55.1.35-58.1991>
- Lin., K., Lin, H. (2006) Quality characteristics of chinese-style meat containing bacterial cellulose. *Journal of food science*, 69(3). Doi:<http://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004tb13378.x>
- Zhun, H., Yang, H., Tang, W., Jia, Y., Tan, Z (2010). Characterization of bacteriostatic sausage casing: A composite of bacterial cellulose embedded with 3-lysine. *Food science and Biotechnology*, 19, 1479-1484. Doi. <http://doi.org/10.1007/s10068-10068-010-0211-y>
- Paximada, P., Koutinas, A., Mandala, I. (2016). Effect of bacterial cellulose addition on physical properties of WPI emulsions. Comparison with common thickeners. *Food Hydrocolloids*. 54, 245-254. Doi. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.10.014>
- *Sector papel en 2021: Cómo el papel y el cartón han vuelto a la normalidad.* (2022, enero 27). Solucion México. <https://www.solucion.mx/blog/sector-papel-en-2021-como-el-papel-y-el-carton-han-vuelto-a-la-normalidad-2/>
- *Reciclar una tonelada de papel salva hasta 20 árboles.* (2022, diciembre 27). MAPFRE. <https://www.mapfre.com/actualidad/sostenibilidad/reciclar-papel-salva-arboles/>
- *Celulosa.* (s. f.). <https://www.quimica.es/enciclopedia/Celulosa.html#:~:text=4%20V%C3%A9ase%20tambi%C3%A9n,Estructura%20de%20la%20celulosa,valor%20m%C3%ADnimo%20de%20n%3D%20200.>
- Lorenzo-Santiago, M. A., Rendón-Villalobos, J. R., García-Hernández, E., Juárez-López, A. L., Trujillo-Hernández, C. A., & Resumen, I. Q. (s/f). *Coloquio de Investigación Multidisciplinaria 2016 ISSN: 2007-* Uagro.mx. Recuperado el 16 de noviembre de 2023, de http://ri.uagro.mx/bitstream/handle/uagro/1163/08300590_1.pdf?sequence=1&isAllowed=y