

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS BIOACTIVAS DE CELULOSA
BACTERIANA ELABORADAS A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN DE *MORINGA
OLEIFERA* Y *ALOE VERA*.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN
INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

PRESENTA:

CRISTAL ALEJANDRA OCHOA CHANTACA

GENERAL ESCOBEDO, N.L.

FEBRERO DE 2024

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE AGRONOMÍA



**CARACTERIZACIÓN DE PELÍCULAS BIOACTIVAS DE CELULOSA
BACTERIANA ELABORADAS A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN DE
MORINGA OLEIFERA Y *ALOE VERA*.**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN
INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

PRESENTA:

CRISTAL ALEJANDRA OCHOA CHANTACA

GENERAL ESCOBEDO, N.L.

FEBRERO DE 2024

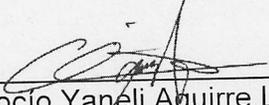
ESTA TESIS FUE REVISADA Y APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS CON ORIENTACIÓN EN
INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

COMITÉ PARTICULAR



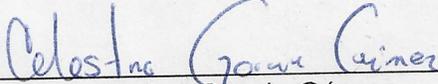
Dra. Julia Mariana Márquez Reyes
Directora de Tesis



Dra. Rocio Yanéli Aguirre Loredó
Co-Directora



Dr. Alejandro Isabel Luna Maldonado
Asesor



Dr. Celestino García Gómez
Asesor

ESTA TESIS FUE APROBADA EN FORMATO, POR EL COMITÉ DE POSGRADO,
ATENDIENDO A EL ARTÍCULO 123, DEL REGLAMENTO GENERAL DEL
SISTEMA DE POSGRADO DE LA UANL.

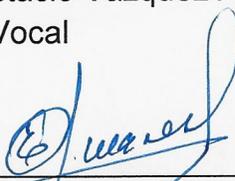
COMITÉ DE POSGRADO


Dra. Juanita Guadalupe Gutiérrez Soto
Presidenta


Dr. Celestino García Gómez
Secretario


Dra. Lidia Rosaura Salas Cruz
Vocal


Ph.D. Rigoberto Eustacio Vázquez Alvarado
Vocal


Ph.D. Emilio Olivares Sáenz
Vocal


Dra. Sughey Ramona Sinagawa García
Vocal


Dr. Guillermo Niño Medina
Vocal

DEDICATORIA

A Dios, por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud y fuerza para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi esposo Alfredo López, por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, por su paciencia, por su comprensión, por su fuerza, por su amor y por siempre ayudarme a alcanzar el equilibrio que me permite dar todo mi potencial.

A mi padre Alfredo Ochoa que me alentó a continuar con mis estudios.

A mi madre Irene Chantaca y mis hermanos Alfredo e Ilem por su incondicional apoyo durante esta etapa de mi vida.

A mi mentora la doctora Julia Mariana Márquez Reyes por su paciencia y apoyo.

A mi amiga Judith Alejandra Soto Cuevas por su apoyo en los momentos más difíciles durante la maestría.

A mis compañeros de generación y maestros por todos los momentos vividos en el aula de clase.

AGRADECIMIENTO

Primeramente, agradezco a Dios por permitirme concluir con mis estudios profesionales.

Este trabajo se lo dedico con todo mi amor y cariño a mi padre Alfredo Ochoa Rodríguez por alentarme a seguir con mis estudios. Gracias por haber existido y por ser hoy una luz en mi vida.

A mi esposo por apoyarme en la realización de mi maestría, por darme su fortaleza e inspiración. Por creer siempre en mí y decirme a diario que si podía lograrlo. Este logro también es tuyo, te amo.

A mi madre Irene Chantaca y a mis hermanos Alfredo e Ilem por apoyarme con sus ánimos y buenos consejos para seguir adelante en mi formación académica.

Agradezco a la doctora Julia Mariana Márquez por creer en mí y apoyarme a lo largo de la maestría.

A mi comité de tesis que me apoyaron en el proceso, aportando material, instalaciones y sobre todo su conocimiento.

Agradezco a la Universidad Autónoma de Nuevo León y sobre todo a la Facultad de Agronomía por brindarme las facilidades necesarias para concluir este trabajo.

Al CIQA y a la doctora Rocío Yaneli Aguirre Loredo por su colaboración en esta investigación

A CONAHCYT por la beca otorgada para seguir avanzando en mi formación profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	15
HIPÓTESIS.....	17
OBJETIVOS.....	18
1.1 Objetivo General.....	18
1.1.1 Objetivos Específicos	18
REVISIÓN DE LITERATURA.....	19
2.1 Importancia de la Alimentación	19
2.2 Estrategias de Manejo Pos-cosecha de Alimentos o Producto	19
2.3 Recubrimientos en Alimentos.....	19
2.4 Clasificación de los Recubrimientos Comestibles.....	20
2.4.1 Hidrocoloides	20
2.4.2 Lípidos	21
2.4.3 Compuestos.....	21
2.5 Celulosa Bacteriana: Origen y Características.....	22
2.6 Aplicaciones de la Celulosa Bacteriana.....	22
2.7 Celulosa Bacteriana como Recubrimiento.....	23
2.8 <i>Moringa Oleífera</i>	25
2.9 Características, Propiedades Químicas, Usos y Aplicaciones del <i>Aloe vera</i>	26
MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
3.1 Material biológico.....	28
3.2 Preparación del Fermentado de <i>Moringa oleifera</i>	28
3.2.1 Determinación de Acidez.....	28
3.2.2 Determinación de pH.....	29
3.2.3 Determinación de Azúcares Totales	29
3.2.4 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).....	29
3.2.5 Fenoles Totales	29

3.2.6 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS).....	30
3.2.7 FRAP	30
3.3 Caracterización de Celulosa Bacteriana	30
3.3.1 Química	30
3.3.2 Rendimiento de Peso Seco (RPS).....	31
3.3.3 Actividad Antimicrobiana.....	31
3.3.5 Determinación de Color	32
3.3.6 Opacidad	32
3.3.7 Espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV)	32
3.3.8 Transparencia relativa	32
3.3.9 Ensayo de Biodegradabilidad	33
3.3.10 Solubilidad en Agua.....	33
3.3.11 Permeabilidad al Vapor de Agua (PVA).....	34
3.3.12 FTIR-ART	34
3.3.13 Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)	34
3.3.14 Análisis de Difracción de Rayos X (XRD)	35
3.3.15 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).....	35
3.3.16 Propiedades Mecánicas.....	35
3.4 Análisis Estadístico	36
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
4.1 Fermentado	37
4.1.1 Determinación de Acidez	37
4.1.2 Determinación de pH	38
4.1.3 Determinación de Azúcares Totales	40
4.1.4 Compuestos Fenólicos	41
4.1.5 Actividad Antioxidante.....	43
5.1 Películas de Celulosa Bacteriana	47
5.1.1 Rendimiento de Peso Seco (RPS).....	47
5.1.2 Determinación de Antioxidantes, Compuestos Fenólicos y Azúcares Totales	48
5.1.2 Actividad Antimicrobiana.....	49

5.1.3 Determinación de Color	51
5.1.4 Opacidad	52
5.1.5 Espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV)	53
5.1.6 Transparencia Relativa	54
5.1.7 Ensayo de Biodegradabilidad	54
5.1.8 Solubilidad en Agua	56
5.1.9 Permeabilidad al Vapor de Agua	56
5.1.10 FTIR-ATR	57
5.1.11 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	59
5.1.12 Análisis de Difracción de Rayos X (DRX)	60
5.1.13 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	61
5.1.14 Análisis Termogravimétrico (TGA)	63
5.1.15 Propiedades Mecánicas	63
CONCLUSIONES	66
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características de la celulosa bacteriana como recubrimiento	24
Cuadro 4. Actividad antimicrobiana de las películas de celulosa bacteriana.....	50
Cuadro 5. Coordenadas CIE-L*a*b* de la celulosa bacteriana en fondo blanco (FB) y fondo negro (FN).....	52
Cuadro 6. Caracterización de la celulosa bacteriana.	56
Cuadro 7. Propiedades mecánicas de la celulosa bacteriana.	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de acidez titulable del control, T1, T2 y T3 durante los 15 días de fermentación.....	38
Figura 2. Determinación de pH del control, T1, T2 y T3 durante los 15 días de fermentación.....	39
Figura 3. Determinación de azúcares totales del Control, T1, T2 y T3 durante los 15 días de fermentación.....	41
Figura 4. Determinación de Fenoles Totales del Control, T1, T2 y T3 durante los 15 días de fermentación.....	42
Figura 5. Determinación de DPPH del Control, T1, T2 y T3 durante los 15 días de fermentación.....	43
Figura 6. Determinación de ABTS del Control, T1, T2 y T3 durante los 15 días de fermentación.....	45
Figura 7. Determinación de FRAP del Control, T1, T2 y T3 durante los 15 días de fermentación.....	46
Figura 8. Película de celulosa bacteriana del T1	47
Figura 9. Actividad antimicrobiana a) E. coli control (b) S. aureus control, (c) Salmonella, (d) E. coli, (e) S. aureus y (f) Salmonella	50
Figura 10. Películas de celulosa bacteriana húmedas y secas del a) Control, b) T1, c) T2 y d) T3.....	51
Figura 11. Gráfica de espectroscopia ultravioleta-visible (UV) del T1 con absorbancias de 200 a 800nm.	53
Figura 12. Ensayo de biodegradabilidad en porcentaje de pérdida de peso (WL%) de la celulosa bacteriana.....	55
Figura 13. Aspecto visual de la película del T1 a diferentes tiempos de desintegración. (a) día 5, (b) día 14, (c) día 21, (d) día 28, (e) día 31, (f) día 33, (g) día 36, (h) día 39, (i) día 42, (j) día 45.....	55
Figura 14. Permeabilidad al vapor de agua durante 7 horas.....	57
Figura 15. Espectro FTIR-ART de la celulosa bacteriana	59
Figura 16. Imágenes obtenidas por microscopia electrónica de barrido de la película de celulosa bacteriana observada a: (a) 2500x, (b) 2500x, (c) 500x, (d) 500x, (e) 250x	

y (f) 250x.	60
Figura 17. Análisis de difracción de rayos X de la celulosa bacteriana.	61
Figura 18. Calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la película de celulosa.....	62
Figura 19. Análisis termogravimétrico de la celulosa.....	63

RESUMEN

El uso alternativo de materias amigables con el medio ambiente cada día es más estudiado, un material alternativo para utilizarse en la industria alimentaria es la celulosa bacteriana que, por sus características mecánicas, químicas, estructurales y microbianas la hacen un material prometedor para su aplicación. El objetivo de la presente investigación fue producir y caracterizar química, antimicrobiana, mecánica y estructuralmente una película de celulosa bacteriana elaborada a partir de la fermentación de *Moringa oleifera* y *Aloe vera*.

La primera fase de la investigación se enfocó en caracterizar las condiciones de fermentación para la producción de la celulosa microbiana. Para ello se evaluó la relación dextrosa-*Aloe vera* a distintas concentraciones (control 100:0, T1 50:50, T2 75:25 y T3 25:75 %W/W) mediante capacidad antioxidante (DPPH, ABTS y FRAP), compuestos fenólicos, pH, acidez y azúcares totales, analizados los días 3, 6, 9, 12 y 15; además de cuantificar la producción de celulosa. Encontrándose que a menor concentración de *A. vera* mayor pH, lo cual puede estar relacionado directamente con la biodisponibilidad de los compuestos consumidos por los microorganismos los cuales modifican los valores de pH en el fermentado. Asimismo, todos los tratamientos mostraron actividad antioxidante, sin embargo, el T1 obtuvo mayor concentración en FRAP (78.94 ± 2.82 mM TE/mL), fenoles totales (11.80 ± 1.96 mg GAE/mL) y azúcares totales (3340 ± 50.91 mg/L) además fue el tratamiento que obtuvo mayor peso seco de la celulosa microbiana (4.33 ± 0.44 mg).

La segunda fase fue caracterizar la celulosa microbiana generado en la fase anterior evaluando su actividad antioxidante (DPPH y ABTS), concentración de fenoles totales, azúcares totales, actividad antimicrobiana (bacterias Gram negativas y Gram positivas), cualidades mecánicas y estructurales (FTIR-ART, microscopía electrónica de barrido (SEM), análisis de difracción de rayos X, calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA), biodegradabilidad, permeabilidad al vapor de agua, transparencia relativa,

solubilidad en agua, determinación de color y opacidad.

La película de celulosa bacteriana caracterizada fue la del tratamiento T1, mostró actividad antioxidante y actividad antimicrobiana ante *E. coli*, *S. aureus*, y *Salmonella*, así como una degradación completa a partir del día 36. Asimismo, mostró una superficie rugosa, sin grietas ni poros. En cuanto a la DRX se observó un pico característico al óxido de zinc. Para DSC la película presentó la fase vítrea a los 51.85 °C y una degradación a los 281°C, mientras el análisis de TGA mostró que la fase vítrea pierde el 4.7 % de la masa. Para las propiedades mecánicas la película obtuvo fuerza de cedencia igual a 11.4 ± 5.6 N, una resistencia de tensión a la cedencia de 6.2 ± 3 MPa, una fuerza máxima de 12.2 ± 6.1 MPa, una fuerza de resistencia a la tensión máxima de 6.6 ± 3.2 MPa, fuerza de ruptura de 11.3 ± 6.6 N y una resistencia a la tensión de ruptura de 6.1 ± 3.5 MPa, asimismo obtuvo una elongación de cedencia de 5.09 ± 2.5 % y una elongación de ruptura de 5.6 ± 3 %.

Los resultados obtenidos en esta investigación dan el sustento para utilizar en la fermentación de la kombucha, *M. oleífera* y *A. vera*. El porcentaje de *A. vera* adicionada en la fermentación influye directamente en la formación de la celulosa microbiana y su presencia se puede observar en la caracterización de esta cuando no se somete la celulosa a purificación. Mientras que la película de celulosa bacteriana cumple con algunas características para ser usada como embalaje o ingrediente activo.

INTRODUCCIÓN

Las películas bioactivas son utilizadas en la industria alimentaria porque se derivan de polímeros biodegradables y no tóxicos. Este tipo de películas pueden ayudar a mejorar la calidad de los alimentos durante su almacenamiento y pueden ser consumidas como parte de este (Sánchez-González *et al.*, 2011). Las principales funciones son proteger el producto de daños mecánicos durante la manipulación física, y reducir o retrasar el deterioro por procesos químicos y microbiológicos (Falguera *et al.*, 2011). Las películas comestibles presentan múltiples ventajas como prevenir la pérdida de humedad del producto y ayudar a preservar la textura, el sabor y apariencia (Rhim, 2004). También forman una barrera contra los gases, reduciendo la respiración y el proceso de deterioro, así como la oxidación enzimática (Valdés *et al.*, 2015). Esto limita el intercambio de compuestos volátiles entre el alimento y el ambiente circundante, evitando la pérdida de sabor, aroma y la obtención de sabores extraños. Asimismo, las películas comestibles sirven como portadoras de otros ingredientes funcionales, tales como propiedades antimicrobianas, antioxidantes, colorantes y saborizantes (López-Díaz *et al.*, 2015).

La kombucha es una bebida asiática tradicional que se obtiene de la fermentación generalmente de té verdes o negros y en los últimos años ha ganado una gran popularidad debido a sus beneficios para la salud ya que posee propiedades funcionales tales como antimicrobianos, antioxidantes, anticancerígenos, antidiabéticos y ha demostrado ser beneficioso en el tratamiento de úlceras gástricas (Zubaidah *et al.*, 2018). El proceso de preparación del té de kombucha se basa en inocular un cultivo simbiótico de hongos y levaduras (SCOBY, por sus siglas en inglés) contenido dentro de una matriz de exopolisacáridos microbianos (Yuliana *et al.*, 2023). Entre los microorganismos generalmente empleados está el género *Acentobacter* como *A. xylinum*, *A. xylinoides*, *Bacterium Glucon icum*, *A. acetii*, *A. pasteurianus* y levaduras, como *Saccharomyces ludwigii*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Kloeckera apiculata*, *Brettanomyces custersii*, *Brettanomyces lambicus*, además de

algunas especies de *Candida* y *Pichia* (Ashrafi *et al.*, 2018).

Durante la fermentación de la kombucha se forma una película flotante en la interfase gas-líquido, correspondiente a celulosa bacteriana (Gutiérrez-Castañeda *et al.*, 2014). La celulosa bacteriana posee propiedades importantes como, alta pureza, alta capacidad de retención de agua, viscosidad intrínseca, mayor cristalinidad (70-80%), así como buenas propiedades mecánicas, porosidad y biocompatibilidad. Por este motivo actualmente existe interés en diferentes industrias como la del papel, textil, alimenticia, de explosivos, azúcares fermentables, médica y biotecnológica entre otras, para generar diversas aplicaciones (Abercron y Pacheco-Sánchez, 2023).

La planta de *M. oleifera* tiene gran cantidad y alta calidad de compuestos bioactivos, debido a esto, estas plantas podrían utilizarse en diversas tecnologías alimentarias por sus propiedades antibacterianas, antioxidantes y fortificantes de alimentos, así como otros fines nutricionales y tecnológicos (Saucedo-Pompa *et al.*, 2018). Un ejemplo de ello son los extractos acuosos de hojas de moringa, que tienen buenas perspectivas para aplicación alimentaria esto debido a que puede conservar los alimentos al inhibir la oxidación de lípidos y combatir una variedad de microorganismos patógenos como bacterias y hongos, que son importantes en la industria alimentaria (Shah *et al.*, 2015).

Por otra parte, el mucilago o gel de la hoja de *A. vera* consiste en un 99.5% agua, 0.5% de sólidos, y contiene polisacáridos, vitaminas, minerales y compuestos fenólicos (Benítez *et al.*, 2015). El mucilago ha demostrado ser efectivo como tratamiento para mantener la calidad de los productos después de la cosecha, previniendo la pérdida de humedad y firmeza y controlando la tasa de respiración (Lin y Zhao, 2007).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue caracterizar química, antimicrobiana, mecánica y estructuralmente películas bioactivas de celulosa bacteriana, derivada de la fermentación de *M. oleifera* con diferentes concentraciones de *A. vera*.

HIPÓTESIS

Las formulaciones de kombucha a base de *M. oleifera* y *A. vera* producirán una celulosa bacteriana con características químicas, antimicrobianas, mecánicas y estructurales adecuadas para su utilización en la industria agroalimentaria y ambiental.

OBJETIVOS

- **1.1 Objetivo General**

Caracterizar química, antimicrobiana, estructural y mecánica de películas bioactivas de celulosa bacteriana generadas durante la fermentación de *M. oleifera* y *A. vera*.

1.1.1 Objetivos Específicos

- Analizar el fermentado de kombucha a base de *M. oleifera* y *A. vera*.
- Analizar las propiedades estructurales, mecánicas, antimicrobianas y química de las películas de celulosa generadas en la fermentación de *M. oleifera* y *A. vera*.

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia de la Alimentación

Una alimentación saludable durante toda la vida ayuda a prevenir la desnutrición y una serie de enfermedades y afecciones no transmisibles. Sin embargo, los hábitos alimentarios de la sociedad también están cambiando debido al creciente consumo de alimentos procesados, la rápida urbanización y los cambios en el estilo de vida. Cada vez más personas consumen alimentos ricos en calorías, grasas, azúcares libres, aditivos químicos y sal/sodio. Además, muchas personas no comen suficientes frutas, verduras y fibra (WHO, 2020).

La correcta composición de una dieta sana, variada y equilibrada depende de las características de cada persona (estilo de vida, sexo, edad nivel de actividad física), cultura, disponibilidad de alimentos locales y hábitos alimentarios. Sin embargo, los principios básicos de una alimentación saludable son los mismos (*Alimentación saludable*, 2023).

2.2 Estrategias de Manejo Pos-cosecha de Alimentos o Producto

El manejo adecuado de diversos productos agrícolas tiene como finalidad determinar la calidad y su posterior comercialización o consumo. Uno de los principales objetivos poscosecha es preservar la integridad física y la calidad del producto y conservar el producto por un largo tiempo para evitar daños a su valor nutricional y comercial (De Agricultura y Desarrollo Rural, 2023).

Una buena gestión de los sistemas postcosecha incluye actividades desde la recolección en el campo hasta la cosecha final, tales como el acondicionamiento del producto, secado, limpieza, clasificación, almacenamiento y control de plagas (De Agricultura y Desarrollo Rural, 2023).

2.3 Recubrimientos en Alimentos

Los recubrimientos alimentarios se pueden definir como una matriz continua,

comestible, delgada y transparente formada alrededor de un producto alimenticio y generalmente sumergida en una solución de recubrimiento para preservar su calidad y servir como embalaje (Valdés *et al.*, 2015). La solución formadora del recubrimiento puede estar conformada por polisacáridos, proteínas, lípidos o por una mezcla de estos (Laura, 2018). Los recubrimientos son utilizados ampliamente en la industria de alimentos ya que pueden ser consumidos junto con éste, debido a que se derivan de polímeros biodegradables, comestibles, no tóxicos y que ayudan a incrementar la calidad de los alimentos durante la conservación (Sánchez-González *et al.*, 2011). Algunas de sus funciones son proteger el producto de daños mecánicos, actividades físicas, químicas y microbiológicas (Pablo *et al.*, 2011).

La forma en que los recubrimientos ayudan a mantener la calidad de las frutas y vegetales es creando una barrera física al aire, cambiando el aire dentro de la fruta y retrasando la maduración y el envejecimiento (Rojas-Grau *et al.*, 2009). El desarrollo de recubrimientos a base de polisacáridos ha experimentado un crecimiento significativo en la industria alimentaria debido a la diversidad de aplicaciones que ofrecen y la escala de productos procesables. Entre los polisacáridos más utilizados en la elaboración de recubrimientos se encuentran derivados de la celulosa, almidón, quitosano, alginato, carragenina, pectina, entre otros (Cagri *et al.*, 2004). Por su facilidad de procesamiento, bajo costo, abundancia y nula toxicidad ofrecen una alternativa interesante para ayudar a satisfacer las necesidades de una agricultura sostenible (Bautista-Baños *et al.*, 2005; Valdés *et al.*, 2015).

2.4 Clasificación de los Recubrimientos Comestibles

Los recubrimientos comestibles se clasifican según los materiales estructurales que los componen, y si el uso final es protección de alimentos, deben ser sustancias de alta calidad, seguras para el consumo humano y de bajo costo (Solano-Doblado, 2018). Entre estos, destacan por su amplia disponibilidad y mayor uso, los hidrocoloides y lípidos.

2.4.1 Hidrocoloides

Se trata de polímeros hidrófilos (que contienen grupos hidroxilo -OH) de origen

vegetal, animal o microbiano (Raghav, *et al.*, 2016; Parreidt, 2018). Se disuelven y dispersan en agua, lo que produce un aumento significativo de la viscosidad y, en algunos casos, un efecto gelificante. En los últimos años se ha incrementado el desarrollo de películas biodegradables a base de hidrocoloides, que presentan excelentes propiedades mecánicas y de barrera frente a O₂, CO₂ y lípidos. La desventaja es que, por su naturaleza hidrófila, permiten un alto transporte de moléculas de agua (Chambi, *et al.*, 2011). Los más comunes para la formulación de películas y recubrimientos son el almidón, alginato, pectinas, quitina, quitosano, carragenina, derivados de celulosa y proteínas como la caseína, proteínas de suero de leche, colágeno y zeína de maíz (Dickinson, 2009).

2.4.2 Lípidos

Los lípidos se caracterizan por su hidrofobicidad, su naturaleza no polimérica y por generar una buena barrera contra la humedad (Kester y Fennema, 1986). Los grupos de lípidos utilizados en recubrimientos y películas de alimentos pueden incluir ceras, resinas y ácidos grasos, monoglicéridos y diglicéridos (Kester y Fennema, 1986; Rhim *et al.*, 2005). La desventaja de estos materiales es su capacidad para formar películas. En otras palabras, la integridad estructural o la durabilidad son insuficientes. Sin embargo, se utiliza principalmente para la protección de la fruta, donde se utiliza una capa lipídica externa para complementar las ceras naturales presentes en la fruta, la cual se elimina durante el lavado (Valdés *et al.*, 2015).

2.4.3 Compuestos

Se pueden producir películas y recubrimientos alimentarios a partir de mezclas compuestas de polisacáridos, proteínas y lípidos, lo que permite combinar las diversas propiedades funcionales de cada compuesto, y además reducir las desventajas de cada uno (Kester y Fennema, 1986). Al crear estos compuestos, el principal objetivo es mejorar las propiedades mecánicas y la permeabilidad a gases y/o vapor de agua (Navarro-Tarazaga, 2007).

2.5 Celulosa Bacteriana: Origen y Características

La celulosa microbiana, también conocida como celulosa bacteriana, es un polímero extracelular sintetizado por bacterias principalmente de los géneros *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium* y *Sarcina* (Pineda *et al.*, 2012). El productor más eficiente es *Acetobacter xylinum* (reclasificado como *Gluconoacetobacter xylinus*), una bacteria Gram-Negativas del género *Acetobacter*, que se utiliza como microorganismo modelo en investigaciones básicas (Dary *et al.*, 2012).

Fue reportada por primera vez por J. Brown en 1886 donde expuso el descubrimiento de una película que se formaba en la fermentación del ácido acético, cuando se separa y se cultiva en condiciones adecuadas, aparece en forma de una capa gelatinosa translúcida en la superficie (Jonas *et al.*, 1998; Bielecki *et al.*, 2002). Aunque fue descrita en 1886, la celulosa bacteriana ha ganado mayor atención en las últimas décadas, y el creciente interés por este material se debe a sus propiedades y aplicaciones (Dary *et al.* 2012). Las membranas de celulosa resultan del secado de materiales naturales, como frutas en descomposición, reteniendo humedad cerca de las células bacterianas. Otra ventaja de la producción de la celulosa es que disminuye la exposición a la luz ultravioleta, protege contra los efectos nocivos de la luz solar, pero también previene la colonización de materiales naturales por organismos competidores como moho y otras bacterias (Jonas, 1998b; Reynolds, 1999; Dufresne, 2013)

Una de las propiedades más importantes de la celulosa bacteriana es su alta pureza, ya no contiene hemicelulosa ni lignina, como si ocurre con la celulosa vegetal. Presenta una excelente biodegradabilidad, alto módulo de Young (15~30 GPa), gran capacidad de retención de agua (hasta cien veces su peso), así como una excelente afinidad biológica (Tuya Salas, Gutiérrez Moreno y Merino Rafael 2021). Una vez purificada, la celulosa bacteriana no es tóxica, no es alergénica y es biocompatible (Pineda *et al.*, 2012).

2.6 Aplicaciones de la Celulosa Bacteriana

Son numerosos los campos en donde se puede aplicar la celulosa bacteriana, actualmente solo existen unas pocas aplicaciones comerciales (Dary *et al.* 2012).

Algunos productos disponibles comercialmente son Biofill R que es un producto para cubrir heridas y Gengiflex R, material utilizado para fabricar implantes dentales (Chawla *et al.*, 2009). Otro uso comercial de la celulosa bacteriana es en transductores acústicos, ya que tiene una excelente resistencia mecánica después del tratamiento químico (Yamanaka *et al.*, 1989). Además de las aplicaciones comerciales, entre las aplicaciones que se encuentran en etapa de desarrollo destacan en el campo de la medicina, como sustituto temporal de piel (apósito) para el tratamiento de heridas, quemaduras, úlceras y abrasiones en la epidermis (Czaja, *et al.*, 2006). Para darle a este recubrimiento un efecto antimicrobiano más fuerte Maneerung *et al.*, (2008) desarrollaron un compuesto de celulosa bacteriana y nanopartículas de plata y demostraron su eficacia para proteger las heridas ante microorganismos tanto Gram-negativos como Gram-positivos.

2.7 Celulosa Bacteriana como Recubrimiento

En el Cuadro 1, se muestran distintas condiciones y formulaciones de películas y recubrimientos comestibles con celulosa bacteriana.

Cuadro 1. Características de la celulosa bacteriana como recubrimiento

Condiciones y formulación	Características	Referencia
La tasa de adición de celulosa bacteriana es del 5 % (p/p), con una formulación en porcentajes máxicos de: cáscara de naranja 15%, celulosa bacteriana 0.5%, pectina 40%, glicerol 40%.	Resistencia a la tensión 5.53 N/mm ² , elongación 51.60%, y permeabilidad al vapor de agua 0.0273 g.mm/hkPa.m ² .	(Mayhuire et al. 2019)
Fibrillas de celulosa bacteriana 95% de contenido de humedad, 0.8% (p/v) de carboximetilcelulosa, 0.8% (p/v) de polvo de orujo. A una temperatura de 90°C	Buena miscibilidad entre componentes intermedios. Es prometedor como recubrimiento para alimentos con alto contenido de lípidos.	(Isopencu et al. 2021)
Nanofibra de celulosa bacteriana 0.6 y 0.8% en peso se añadió mucilago de semilla de chia y se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Se sumergieron las fresas 5 minutos, se secó al aire 15 minutos a 25°C yalmaceno a 4°C y 75% de humedad relativa durante 9 días.	Aumento de la vida de anaquel de las fresas en refrigeración. Reducción de oxígeno Inhibición de polifenoles, enzimas oxidasa y peroxidasa.	(Rasoul, Rahmati-joneidabad, y Noshad 2021)

2.8 *Moringa Oleifera*

La moringa (*Moringa oleifera* Lam.) es un árbol esbelto de madera blanda que pertenece a la familia Moringaceae (Anwar *et al.*, 2007). Es una planta originaria de las zonas subhimalayas de India, Pakistán, Bangladesh y Afganistán (Fahey, 2005). La *Moringa oleifera* es llamado el "Árbol de la vida" debido a sus efectos benéficos sobre la salud, la nutrición, el saneamiento del agua y el medio ambiente (Oyeyinka y Oyeyinka, 2018). Se aprovechan la raíz, semillas, corteza, el aceite de la semilla, la goma, hojas, fruto, y las flores (Abdel-latif *et al.* 2022).

M. oleifera tiene una tasa de asimilación de CO₂ veinte veces mayor a otras especies vegetales y requiere muy poca agua para su cultivo, además de mejora la fertilidad del suelo (Gedefaw, 2015; Sahay *et al.*, 2017). Las hojas se pueden consumir frescas, cocidas o almacenado como polvo seco durante muchos meses sin refrigeración y sin perder su valor nutricional (Fahey, 2005). El polvo de hoja seca contiene aproximadamente un 25 % de proteína, aminoácidos esenciales (EAA), calcio, potasio, hierro y fósforo (Díaz-Fuentes *et al.*, 2023). También contiene antioxidantes como el ácido ascórbico (vitamina C), flavonoides, polifenoles, carotenoides y compuestos bioactivos como el β -sitosterol. Se ha reportado que posee propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y reductoras del colesterol. Además de excelentes propiedades funcionales como emulsificación y solubilidad del polvo de hoja a una concentración del 4 % (p/v) (Anwar, Ashraf y Bhangar, 2005 ; Gopalakrishnan, Doriya y Kumar, 2021 ; Cattan *et al.*, 2022).

El aceite se utiliza en la industria de perfumería y cosmética para lubricación, además para consumo humano y producción de biodiesel. La cáscara de la semilla se utiliza como materia prima para la producción de carbón activado e intercambiadores de aniones. La planta se puede emplear como muro vivo o acondicionador de aire, y la biomasa lignocelulósica de sus tallos y ramas puede usarse como material de construcción, para producir pulpa celulósica y etanol (Martín *et al.* 2013).

Los productos para consumo humano más importantes comercializados de la moringa son el té de hojas deshidratadas, salchichas, galletas, hamburguesas, pan, salsa para sopa y fideos (Aly *et al.*, 2022).

Se ha reportado que la moringa puede ser utilizada como tratamiento para diversas enfermedades como la anemia, enfermedades del corazón, cerebro, nervios, cáncer, pérdida de visión por deficiencia de vitamina A, cistitis, y prostatitis (Aly *et al.*, 2022).

2.9 Características, Propiedades Químicas, Usos y Aplicaciones del *Aloe vera*

La planta de *Aloe vera* es originaria de Sudáfrica y actualmente se cultiva en todo el mundo, adaptándose a condiciones cálidas y templadas. La especie más utilizada es el *Aloe barbadensis Miller* con nombre común: *A. vera*, pero existen otras especies como *Aloe ferox*, *Aloe arborenses*, *Aloe mitriformis* entre otras (Pérez-Benites *et al.*, 2019). Químicamente se caracteriza por la presencia de componentes fenólicos y se divide en dos grupos principales: las cromonas, como la aloensina y las antraquinonas (libres y glicosiladas) como la barbaloina, isobarbaloina y la aloemodina; estos compuestos se encuentran en la capa interna de las células epidermales (Domínguez-Fernández *et al.*, 2012). Las diferentes partes de la planta contienen aproximadamente 75 nutrientes y 200 compuestos activos, entre ellos aminoácidos, azúcares, enzimas, vitaminas, minerales, saponinas, antraquinonas, lignina y ácido salicílico (Maan *et al.*, 2018).

Las hojas de *A. vera* producen dos productos principales: gel mucilaginoso y un exudado amargo. El gel debido a sus propiedades hidratantes y calmantes es agregado a productos cosméticos, champús, cremas para afeitado y el cuidado de la piel. Se ha reportado que el gel mejora la inmunidad, la función hepática, ayuda a prevenir el asma y actúa como antiinflamatorio, antiulceroso, agente antidiabético y antihipertensivo (Davis, 1997; Dagne *et al.*, 2000).

El gel de *A. vera* contiene aproximadamente 98.5% de agua y es rico en mucílagos. Estos mucílagos se caracterizan por la formación de ácidos galacturónicos y glucorónicos unidos a azúcares como la glucosa, la galactosa y la arabinosa. También están presentes polisacáridos que contienen ácidos urónicos, fructosa y otros azúcares hidrolizados (Vega *et al.*, 2005).

Recientemente, la producción de *A. vera* se ha mejorado significativamente y ha ganado gran atención debido a sus efectos reconocidos en la salud del huésped,

por lo que se promovió su uso como ingrediente funcional en sustancias cosméticas y alimentos funcionales. Además, se ha encontrado que los polisacáridos en la pulpa de *A. vera* juegan un papel importante en las bacterias del ácido láctico activadas y actúan como prebióticos (Cuevas-Limón *et al.*, 2016).

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material biológico

La *Moringa oleifera* se proporcionó por el Centro de Agricultura Protegida (CAP) ubicada en la Facultad de Agronomía (FA), UANL.

El *Aloe vera* se obtuvo de un cultivo experimental realizado en la FA UANL.

El inóculo de trabajo es un consorcio CPN (*Gluconoacetobacter*, *Lactobacillus Lactococcus*, *Ruminococaceae* y *Propionobacterium*) de bacterias y levaduras de kombucha, el cual se proporcionó por el laboratorio de biotecnología microbiana de la FA, UANL.

3.2 Preparación del Fermentado de *Moringa oleifera*

Se evaluó la relación dextrosa-*A. vera* en medio de fermentación (% p/p), control 100:0, T1 50:50, T2 75:25, T3 25:75 (% dextrosa: *A. vera*) respectivamente. El medio de cultivo se preparó con agua destilada a 85 °C, al cual se le adicionó 3.6 g/L de moringa por 15 min para posteriormente ser filtrada y enfriada. Se agregó 50 g/L de dextrosa al control y las proporciones correspondientes al resto de los tratamientos de dextrosa y *A. vera*. Cada tratamiento se realizó por triplicado. El *A. vera* se lavó y se le retiró la pulpa, la cual se licuó para mayor homogeneidad por 3 min. Posteriormente se adicionó al agua a 85 °C junto con la *M. oleifera*.

Los medios se dejaron enfriar para ser fraccionados en frascos de vidrio conteniendo cada uno, 80 mL. Se inoculó con el 3% (v/v) del consorcio CPN. Todos los recipientes fueron cubiertos en la parte superior con gasas, y el resto del recipiente con papel aluminio. Todos los tratamientos se mantuvieron por 15 días a 25 °C y se tomaron muestras para la caracterización del fermentado a los 3, 6, 9, 12 y 15 días.

3.2.1 Determinación de Acidez

La acidez del medio se evaluó mediante titulación volumétrica con NaOH utilizando 10 mL de muestra y fenolftaleína (Витас *et al.*, 2020). La acidez se determinó a partir de los mL de NaOH usando la ecuación 1.

$$\%Acidez = \frac{[(\text{mL NaOH})(N\text{NaOH})(0.06)]}{\text{mL M}} \times 100 \text{ Ecuación (1)}$$

3.2.2 Determinación de pH

Los valores de pH se midieron utilizando un medidor de pH (Thermo Scientific™ Medidor de pH de sobremesa Orion Star™ A211).

3.2.3 Determinación de Azúcares Totales

La concentración de azúcares totales fue cuantificada mediante el método propuesto por López-Legarda *et al.*, (2017). A 1 mL de muestra se le agregaron 5 mL de H₂SO₄ y 1 mL de fenol (5%) se dejaron reposar por 10 min a temperatura ambiente, seguido de un baño frío para finalmente ser analizado por espectrofotometría a 490 nm. Se utilizó glucosa a diferentes concentraciones como estándar para la curva de calibración, los resultados se expresan en mg/mL.

3.2.4 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

El método DPPH se empleó con la preparación descrito por Vohra *et al.*, (2019) con algunas modificaciones. El reactivo DPPH se mezcló con metanol (85%) y la absorbancia se determinó espectrofotométricamente a 517 nm en un rango de 0.7 a 1nm por espectrofotometría. Se tomaron 50 µL de muestra y a mL de reactivo DPPH, se agitó y se resguardó en la oscuridad por 30 minutos. Los resultados se calcularon con una curva de calibración de Trolox (TE) a diferentes concentraciones y se expresan en mM TE/mL.

3.2.5 Fenoles Totales

La cuantificación de los componentes fenólicos se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu con algunas modificaciones (Singleton *et al.*, 1999). Se utilizó Na₂CO₃ al 7.5% y Folin (1N). Dentro de un tubo se colocaron 250 µL de muestra, 800 µL de agua destilada, 50 µL de Folin y 800 µL de Na₂CO₃, se dejaron por 30 minutos en la oscuridad y al finalizar el tiempo se realizó la lectura por espectrofotometría a 750 nm. Los resultados se calcularon mediante una curva de calibración con diferentes

concentraciones de ácido gálico y se expresaron en $\mu\text{g GAE/mL}$.

3.2.6 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS)

El método ABTS se realizó como lo indica Tanticharakunsiri *et al.*, (2020) con modificaciones. Se prepararon ABTS (7mM) y persulfato de potasio 140 mM. Para preparar el reactivo de ABTS, se mezclaron 88 μL de persulfato de potasio con 5mL del reactivo y se mezclaron con metanol puro. La absorbancia se determinó por espectrofotometría en un rango entre 0.7 a 1 nm a una longitud de onda de 734 nm. La cuantificación se hizo mezclando 25 μL de muestra y 1 mL de reactivo ABTS, se agitando y manteniendo en oscuridad por 45 minutos. Los resultados se calcularon con una curva de calibración de Trolox (TE) a diversas concentraciones y se reportaron en mM TE/mL.

3.2.7 FRAP

Se utilizó la técnica de poder antioxidante reductor de hierro (FRAP) reportada por Aung y Eun (2021). Una solución de ácido clorhídrico a 40 mM, buffer de acetato de sodio (pH 3.6), cloruro férrico (0.54g en 10 mL), 2,4,6-Tris-(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) y 0.156 g en 5 mL de ácido clorhídrico al 40 mM. Para preparar el reactivo FRAP se colocaron 10 mL de buffer, 10 mL de cloruro férrico y 5 mL de reactivo TPTZ en un baño seco hasta alcanzar los 37°C. Por último, se mezclaron en un vaso de precipitado recubierto de la luz 10 mL de buffer, 1 mL de cloruro férrico y 1 mL de TPTZ. La cuantificación se realizó mezclando 25 μL de muestra, 1 mL del reactivo FRAP y se resguardo en oscuridad por 1 hora y 30 minutos. Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro de UV/Vis a 595 nm y los resultados se expresaron como $\mu\text{M/mL}$ de Trolox.

3.3 Caracterización de Celulosa Bacteriana

3.3.1 Química

Para la caracterización de celulosa bacteriana formada durante el proceso de fermentación, se pesaron 0.5 g de película seca y se maceró en un mortero con 10 mL de etanol por 10 min, dejándolo reposar por 24 h en completa oscuridad. El extracto

obtenido se utilizó para análisis posteriores. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

Para la determinación de azúcares totales se siguió el mismo procedimiento descrito en la sección 3.2.3. Para la determinación del radical DPPH y ABTS se realizó una dilución 1:200 y 1:100 respectivamente, y el mismo procedimiento descrito en la sección 3.2.4 y 2.2.6, donde los resultados se expresan en porcentaje de inhibición (ecuación 2):

$$\% \text{ inhibición} = \frac{A-A1}{A} \times 100 \text{ Ecuación (2)}$$

Donde A es la absorbancia del blanco y A1 es la absorbancia de la muestra.

Los fenoles totales y FRAP fueron cuantificados de la misma forma descrita en la sección 3.2.5 y 3.2.7 respectivamente, pero considerando una dilución del extracto de 1:1000.

3.3.2 Rendimiento de Peso Seco (RPS)

La medición del peso y el rendimiento de la celulosa producida se realizó colocando la celulosa producida en una caja Petri, cuantificando el peso fresco y luego colocándola en una incubadora a 30°C para secar la celulosa por 48 horas, al final se pesó de nuevo la celulosa en seco. Para la obtención del rendimiento se utilizó la fórmula de la ecuación 3.

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Peso seco de BNC (g)/volumen fermentado(L)}}{\text{Concentración de fuentes de carbono } \left(\frac{\text{g}}{\text{L}}\right)} * 100 \text{ Ecuación (3)}$$

3.3.3 Actividad Antimicrobiana

La evaluación se realizó mediante el método de difusión en agar, empleando bacterias Gram negativas (*Salmonella sp.* y *Escherichia coli*) y la bacteria Gram positiva, *Staphylococcus aureus*. Los microorganismos se activaron en 7 mL de caldo infusión cerebro corazón (CICC) y se incubaron a 37 °C durante 24 hrs. Después del periodo de incubación, el inóculo se determinó a 625 nm en un espectrofotómetro UV-vis y se ajustó a la escala de McFarland a una concentración celular de 3x10⁸ cel/mL.

Posteriormente, se inoculó por dispersión (0.1 mL) cada microorganismo en cajas Petri estériles con agar ICC y se colocó las películas previamente cortadas en discos de 10 mm de diámetro. Finalmente, las placas se incubaron a 37 °C por 24 hrs, transcurrido el tiempo se midió el diámetro del halo de inhibición, cada experimento se realizó por cuadruplicado (Rojas *et al.*, 2005). Para los controles negativos se colocaron discos de papel filtro estéril con antibiótico (ampicilina) a una concentración de 0.05 %.

3.3.5 Determinación de Color

La determinación de color de la celulosa bacteriana se realizó con un colorímetro (Konica-Minolta) mediante las coordenadas CIE-L*a*b* en tres puntos distintos de la película en seco, utilizando un fondo blanco y negro (AL-Kalifawi y Hassan, 2014).

3.3.6 Opacidad

Con la obtención de los datos en la determinación de color se utilizaron las coordenadas c* en ambos fondos y se aplicó la fórmula de la ecuación 4 para obtener la opacidad (Fakhouri *et al.*, 2015).

$$\text{Opacidad} = \frac{\text{Coordenada c en fondo negro}}{\text{Coordenada c en fondo blanco}} * 100 \text{ Ecuación (4)}$$

3.3.7 Espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV)

La espectroscopia ultravioleta-visible se estimó según Hanghigi (2021), con algunas modificaciones. Se utilizó un espectrofotómetro UV-vis (Evolution™ 201 UV-Vis Thermo Scientific™) y se realizó un barrido de 200 a 800 nm utilizando una película rectangular de 4 x 1 cm² (n=4).

3.3.8 Transparencia relativa

La transparencia de las películas se midió utilizando el método descrito por Socaciu *et al.*, (2020) con algunas modificaciones. Todas las películas (n=3) se cortaron en tiras (4x1 cm²) y la absorbancia de la película se registró a 600 nm utilizando un espectrofotómetro UV (Evolution™ 201 UV-Vis Thermo Scientific™). La

transparencia de la película se calculó con la ecuación 5:

$$\text{Transparencia} = A_{600} \times X \quad \text{Ecuación (5)}$$

En donde A_{600} es la absorbancia a 600 nm y X es el espesor (mm) de la película.

3.3.9 Ensayo de Biodegradabilidad

La biodegradabilidad de las películas se analizó por solubilidad en agua y ensayos de degradación en suelo. Se evaluaron 32 muestras de películas (4 x 1 cm), se registró el peso inicial de cada muestra y se colocaron en bolsas de gasa. Se llenó un recipiente con una capa de suelo de 7cm de espesor para posteriormente colocar las muestras y cubrirlas con otra capa de suelo de 7cm de espesor. La humedad del suelo se mantuvo aproximadamente en un 50%. Los experimentos se realizaron de forma independiente por triplicado durante 45 días, analizándose cada 7 días los primeros 28 días y posteriormente se analizaron cada tercer día. La tierra adherida se limpió cuidadosamente y se tomó el peso final. La degradación se calculó como porcentaje de pérdida de peso (WL) según lo descrito por Kaya *et al.*, (2018) utilizando la ecuación 6.

$$\text{WL (\%)} = \frac{\text{Pérdida de peso}}{\text{Peso inicial}} \times 100 \quad \text{Ecuación (6)}$$

3.3.10 Solubilidad en Agua

Para la solubilidad en agua se utilizó la metodología propuesta por Wang *et al.* (2013), con algunas modificaciones. Se utilizó una película rectangular (4 x 1 cm) a la cual se le obtuvo su peso inicial colocándola a 55 °C por 24 h. Posteriormente se colocó en un tubo cónico con 15 mL de agua destilada y se mantuvo en agitación a 100 rpm por 24 h. Transcurrido el tiempo se cuantificó el peso final de la película secándola bajo las mismas condiciones ya especificadas. El análisis se realizó por triplicado. La solubilidad de agua se determinó utilizando la ecuación 7.

$$\% \text{Solubilidad} = \frac{\text{Peso seco inicial} - \text{Peso seco final}}{\text{Peso seco inicial}} \times 100 \quad \text{Ecuación (7)}$$

3.3.11 Permeabilidad al Vapor de Agua (PVA)

El análisis de permeabilidad al vapor de agua (PVA) se realizó por triplicado siguiendo el método del desecante, descrito por la norma estándar ASTM E96-10 (2010) con algunas modificaciones. En un frasco de vidrio se agregaron 3 g de silica gel (0%HR), se cubrió con la película de celulosa bacteriana, posteriormente estos frascos se ingresaron en un desecador (52% HR) a una temperatura controlada de 25 °C. Los frascos con muestra se pesaron cada hora por 7 h en una balanza analítica (RADWAG XA 110/X) y se registró el porcentaje de humedad y temperatura. A partir de la pendiente de la curva peso contra tiempo (J) (Ecuación 8) se calculó la velocidad de transmisión de vapor de agua (VTVA); considerando las presiones parciales de vapor de agua en ambas caras de la película y el espesor, se pudo calcular la permeabilidad al vapor de agua (PVA) (Ecuación 9):

$$VTVA=J/t*A \text{ (Ecuación 8)}$$

$$PVA=VTVA*L/PW(RH1-RH2) \text{ (Ecuación 9)}$$

Donde VTVA es la velocidad de transmisión de vapor de agua; J es la pendiente de la curva peso vs tiempo; t es tiempo; A es el área de permeación [m²]; PVA es la permeabilidad al vapor de agua (g/Pa*s*m); L es el espesor promedio de la película [m]; RH1-RH2 es la diferencia de humedades relativas a cada lado de la película y PW es la presión parcial de vapor de agua a la temperatura de ensayo [Pa].

3.3.12 FTIR-ART

La caracterización de espectroscopía (FTIR) se realizó mediante la técnica de reflexión total atenuada (ATR), con 25 barridos (Thermo Scientific Nicolet iS10 FT-IR) a una longitud de onda entre 4000 a 400 cm⁻¹.

3.3.13 Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

Para conocer la morfología de la superficie, se utilizó la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM) con un microscopio electrónico de barrido SM-510 (TOPCON, Japón) a 15 kV. Las muestras fueron previamente recubiertas con oro-

paladio durante 90 s, con una distancia de trabajo de 18 mm. Las muestras se colocaron en cinta de carbono de doble cara conductora, que se fijó previamente a aluminio. Las muestras se recubrieron con una fina capa de oro utilizando un Sputter Denton Vacuum modelo DESK II (Fonseca-García *et al.*, 2021).

3.3.14 Análisis de Difracción de Rayos X (XRD)

El ordenamiento atómico de las películas se realizó por difracción de rayos X, utilizando un difractómetro de polvo Siemens D500 (Siemens Aktiengesellschaft, Munich, Alemania), con un voltaje de 35 kV y una corriente de 25 mA con $\text{Cu K}\alpha = 1,5406 \text{ \AA}$. Los difractogramas se obtuvieron con el rango del ángulo de Bragg (2θ) de 5° y 35° con la configuración de difracción de polvo en geometría Bragg-Brentano (Fonseca-García *et al.*, 2021).

3.3.15 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Las propiedades térmicas se determinaron en un TA (DSC 2500). Las muestras se colocaron en crisoles de aluminio en un rango de temperatura entre 0°C y 350°C bajo una atmósfera de nitrógeno ($50 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$), siguiendo la norma ASTM D3418-15 (ASTM, 2015).

3.3.16 Propiedades Mecánicas

Las películas se acondicionaron previamente durante 48 h a temperatura ambiente (25°C) y humedad relativa (HR) del 58 %, la cual fue generada por una solución salina sobresaturada de NaBr.

El rendimiento mecánico se obtuvo utilizando un analizador de texturas XT Express Enhanced (Stable Micro Systems, Inglaterra), con un sistema de sujeción de tensión A/TG a temperatura ambiente (25°C), que funciona a una velocidad de $1 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$, con una separación inicial de 25 mm, según la norma D882-12 (ASTM, 2012). Se calculó la resistencia a la tracción (TS) y el porcentaje de elongación en la rotura (%E) de muestras rectangulares de $10 \times 50 \text{ mm}$. Se realizaron diez réplicas y se tomaron los valores de muestras fracturadas en el centro de la película, de las cuales se obtuvo la media y la desviación estándar (Fonseca-García *et al.*, 2021).

3.4 Análisis Estadístico

Los resultados de la fermentación y caracterización química y antimicrobiana de las películas de celulosa se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias con la prueba Tukey ($p \leq 0.05$) utilizando el paquete estadístico Minitab 17. Los gráficos se elaboraron utilizando el programa OriginPro 7.0 y Excel 2010.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Fermentado

4.1.1 Determinación de Acidez

Los resultados de la determinación de acidez se muestran en la Figura 1. La acidez del control y T2 aumentó considerablemente conforme avanzaba el proceso de fermentación, obteniendo al día 12 la mayor concentración, de 3.2 ± 0.98 % y 2.96 ± 0.96 % respectivamente. Siendo T2 el que presentaba la mayor concentración de *A. vera* en los tratamientos. Mientras T1 y T3 obtuvieron el porcentaje de acidez más alto al día 6 con 1.63 ± 0.57 % y 1.07 ± 0.31 % respectivamente. Siendo T3, el que menor concentración de *A. vera* contenía, lo que sugiere una relación entre su concentración y el porcentaje de acidez cuantificado. Se encontró que T3 y T2 son diferentes estadísticamente ($P < 0.05$) al resto de los tratamientos.

Este aumento de la acidez puede deberse a la actividad bacteriana que está consumiendo el polisacárido glucomanano, la glucosa, galactosa, arabinosa, fructosa y otros azúcares hidrolizables que se encuentran presentes en el mucilago (Eberendu *et al.*, 2005). Estos cambios en la kombucha son causados por las bacterias del ácido acético, principales productoras de ácido acético, y otras bacterias que absorben ácidos orgánicos como el ácido glucónico y el ácido glucurónico, que aumentan la acidez del producto fermentado (Jayabalan *et al.*, 2014). En fermentados con té verde (*camellia sinensis*) reportan porcentajes de 4.62 ± 0.05 % a los 18 días de la fermentación (Dada *et al.*, 2021). Además, se ha demostrado que la presencia de *A. vera* incrementa la acidez cuando se utiliza como recubrimiento en frutas (Figueroa *et al.*, 2019).

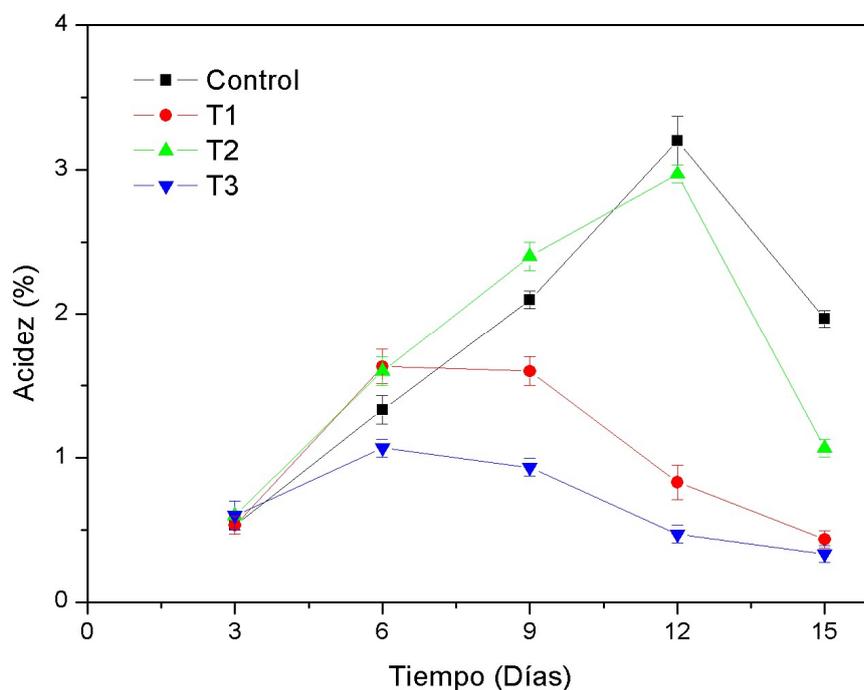


Figura 1. Porcentaje de acidez titulable del control, T1, T2 y T3 durante los 15 días de fermentación.

4.1.2 Determinación de pH

El pH del control, T1 y T2 disminuyó conforme aumentaba el tiempo de fermentación, sin presentar una diferencia significativa ($P < 0.05$) mostrando valores de 2.24, 2.49 y 2.29 respectivamente al día 15 de fermentación. Mientras el pH en T3 aumentó significativamente alcanzando valores de 3.21 al día 15 y siendo estadísticamente diferente al resto de los tratamientos (Figura 2).

El mismo comportamiento de valores bajos de pH se han reportado en fermentaciones de laver (*Porphyra dentata*) kombucha (2.95-2.88) y kombucha a base de té negro (2.7), lo cual es indicativo de una fermentación exitosa debido a la producción de ácidos orgánicos, especialmente ácido acético, y por la presencia de bacterias lácticas y acéticas (Villarreal-Soto *et al.*, 2019; Aung y Eun, 2022). Los valores de pH obtenidos, son característicos de la actividad microbiana de los géneros *Gluconobacter*, *Saccharomyces*, *Brettanomyces*, que mayoritariamente se encuentran

en un fermentado de kombucha (Sanwal *et al.* 2023).

Vistín *et al.* (2021), analizaron diferentes concentraciones de moringa en el medio y concluyeron que a mayor cantidad de hojas se incrementa el pH, sin embargo, en el experimento la concentración fue la misma y no se observó alguna interacción. Estudios reportan que a mayor concentración de mucilago se incrementa el pH debido a los compuestos solubles tales como vitaminas, carbohidratos, enzimas, lípidos y aminoácido (Dagne *et al.*, 2000; Choi y Chung 2003; Ni *et al.*, 2004; Hamman 2008). Sin embargo, en el presente estudio se observó que a menor concentración de *A. vera* mayor pH, lo cual puede estar relacionado directamente con la biodisponibilidad de los compuestos consumidos por los microorganismos, los cuales modifican los valores de pH en el fermentado.

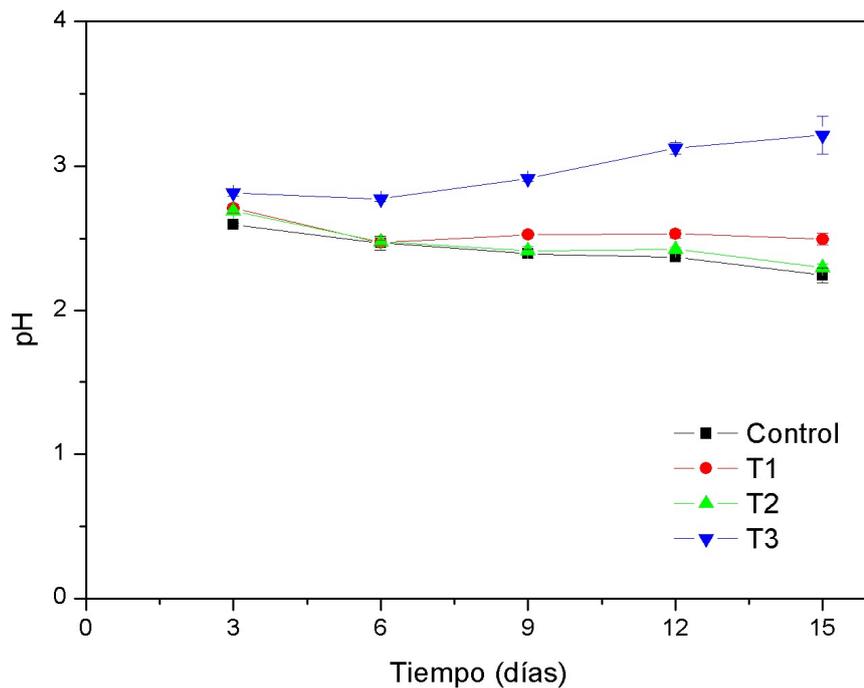


Figura 2. Determinación de pH del control, T1, T2 y T3 durante los 15 días de fermentación.

4.1.3 Determinación de Azúcares Totales

Los resultados respecto a la determinación de contenido de azúcares totales se muestran en la Figura 3. Se observa que no hay una diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los tratamientos (T1, T2 y T3), pero sí entre T3 y el control. Los tratamientos con mayor concentración fueron el control (6640 ± 294.22 mg/L) al día 12 y T1 (3340 ± 50.91 mg/L) al día 6. Sin embargo, al final de la fermentación no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Se ha reportado en un kombucha de té verde una concentración de azúcares totales de $24,000 \pm 0.85$ mg/L al día 6 y $10,960$ mg/L al día 12 de la fermentación (Rodríguez, 2022), valores muy superiores a los reportados en el presente estudio. La disminución de la concentración de azúcares en el medio de fermentación está relacionada directamente con el consumo microbiano durante la fermentación (Almeida *et al.*, 2011; Neffe-Skocińska *et al.*, 2017; Amarasekara *et al.*, 2020) y la presencia de diferentes formas de azúcares en el *A. vera* tales como manosa, glucosa, galactosa y trazas de arabinosa, xilosa y ramnosa (Larionova *et al.*, 2004). Se observó que, a diferentes concentraciones de *A. vera* en el medio, estadísticamente no hay diferencia en el aporte de azúcares durante la fermentación, ya que el consumo es similar a lo largo del tiempo. Sin embargo, es relevante este comportamiento ya que se puede sustituir la dextrosa por *A. vera*, generando una bebida funcional nutracéutica con una baja concentración de azúcares.

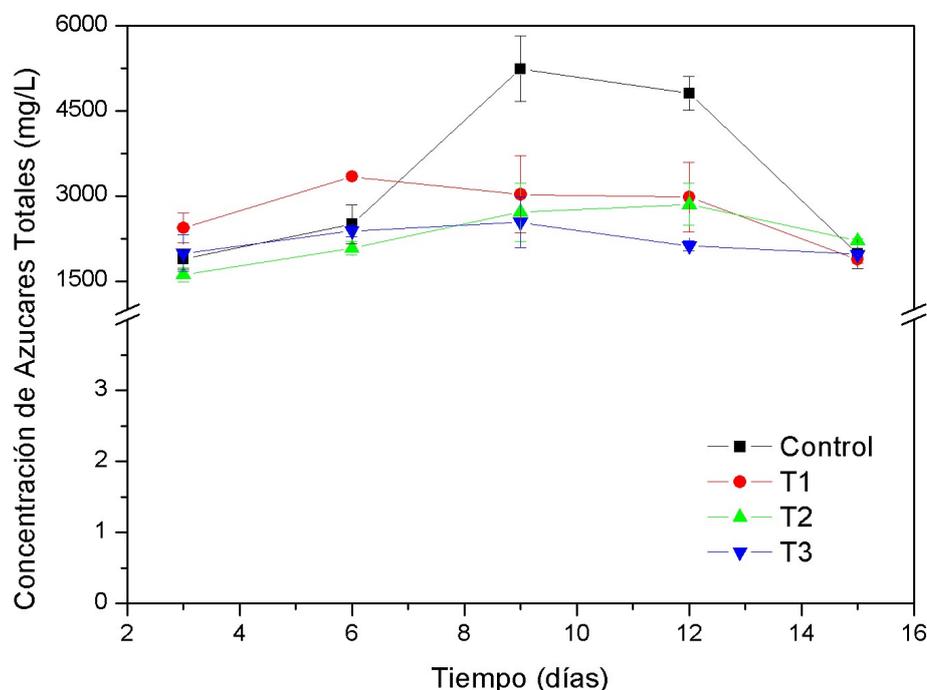


Figura 3. Determinación de azúcares totales del Control, T1, T2 y T3 durante los 15 días de fermentación.

4.1.4 Compuestos Fenólicos

El contenido de fenoles totales (Figura 4) aumento conforme pasaban los días de fermentación, sin embargo, no se obtuvo diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0.05$). La mayor concentración se cuantificó en T1 al día 6 con un contenido fenólico de 11.80 ± 1.96 mg GAE/mL, el comportamiento está relacionado con la concentración de *A. vera* y *M. oleifera* en el fermentado. Estos incrementan la concentración de compuestos fenólicos que son capaces de reducir los radicales libres que causan las reacciones de oxidación (Domínguez-Fernández *et al.*, 2012). Mientras que el tratamiento control, T2 y T3 obtuvieron un contenido de fenoles totales de 8.26 ± 0.39 , 8.87 ± 1.40 y 8.91 ± 0.42 mg GAE/mL a los 3, 12 y 15 días respectivamente. Cardoso *et al.*, (2020) realizaron una investigación con kombucha a base de té verde y té negro y obtuvieron resultados de 0.70 ± 0.09 y 1.09 ± 0.07 mg GAE/mL

respectivamente, valores muy por debajo de los reportados en el presente trabajo. Flores-Aguilar (2022), obtuvo concentraciones ($3380 \pm 46.3 \mu\text{M TR/L}$) menores cuando realizó una bebida con hojas de moringa almacenado durante 14 días a 25°C . La concentración de fenoles totales en los fermentados se encuentra relacionada con los compuestos fenólicos presentes en *A. vera* como la barbaloina, capaces de reducir los radicales libres que causan las reacciones de oxidación (Domínguez-Fernández *et al.*, 2012; Rodríguez-González *et al.*, 2023). Más los presentes en *M. oleifera*, que son metabolitos secundarios sintetizados a partir del aminoácido fenilalanina o tirosina, tales como los flavonoides, taninos, cumarinas, quinonas y antocianinas (Amaya Barragán *et al.*, 2023).

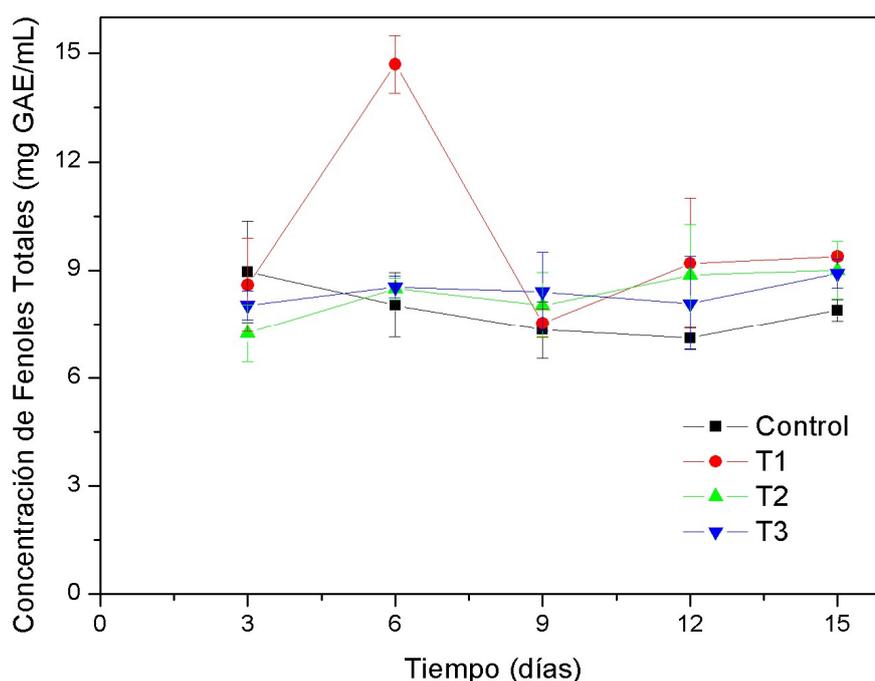


Figura 4. Determinación de Fenoles Totales del Control, T1, T2 y T3 durante los 15 días de fermentación.

4.1.5 Actividad Antioxidante

4.1.5.1 DPPH

El comportamiento de la actividad antioxidante por el radical DPPH en el té de kombucha se muestra en la Figura 5. Se observa una tendencia de aumento de la actividad conforme pasaban los días. Sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) entre los tratamientos. Los tratamientos control y T2 mostraron mayor capacidad para eliminar el radical al día 15 (759.90 ± 9.56 y 746.31 ± 0.68 mM TE/mL), mientras T3 y T1 al día 12 ($767.02.93 \pm 10.83$ y 758.93 ± 11.93 mM TE/mL). Este comportamiento puede deberse a la concentración de *A. vera* utilizada, la cual es reportada con actividad antioxidante debido a la presencia de antroquinonas (Franco-Quino, et al., 2015). Los valores obtenidos en la presente investigación son mayores a los reportados por Kaewkod et al. (2019), en fermentados a base de té verde (0.0155 mM GAE/ml) y los reportados por Braham et al., (2019) en extractos de hojas de moringa (530 μ mol ET/g MS).

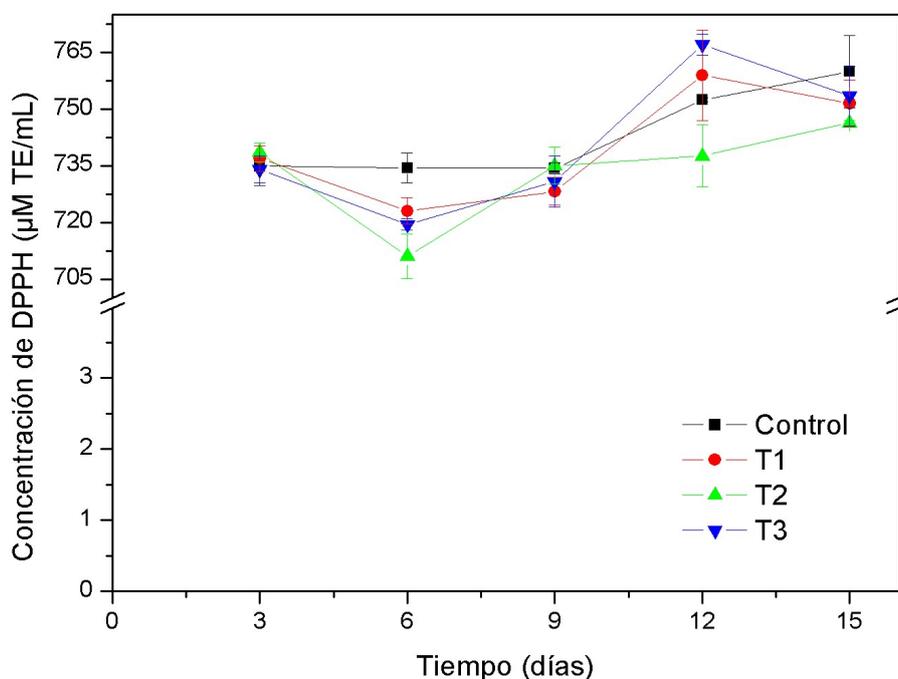


Figura 5. Determinación de DPPH del Control, T1, T2 y T3 durante los 15 días de fermentación.

4.1.5.2 ABTS

El método ABTS determina la actividad reductora de los radicales ABTS mediante la transferencia de electrones o átomos de hidrógeno, que se determina por decoloración (Mwamatope, *et al.*, 2020). La Figura 6 muestra el comportamiento de la actividad antioxidante del radical ABTS del fermentado, en donde se observó un decremento de la concentración a lo largo del tiempo, sin encontrar diferencias estadísticas entre los tratamientos ($P < 0.05$). En los días 3 y 6 se cuantificaron las mayores concentraciones del radical, que oscilaron entre los 771 a 786 mM TE/mL. En la fermentación del té verde se ha reportado una concentración de 8.22 ± 0.86 $\mu\text{mol TE/mL}$ (Cardoso *et al.*, 2020), la cual es inferior al valor obtenido en este estudio.

Se ha informado la presencia de flavonoides y antroquinonas en *A. vera*, donde los anillos de flavonoides son capaces de inhibir la formación de especies reactivas de oxígeno; los flavonoides glicosilados se encuentran en las hojas sanas y poseen actividad reductora (Franco-Quino *et al.*, 2015). El comportamiento incluso podría estar asociado a compuestos presentes en la *M. oleifera* como las vitaminas A, C y E, isotiocianatos, polifenoles y quercetina (Tumer *et al.*, 2015; Cohen-Zinder *et al.*, 2017), los cuales pueden actuar como mecanismos de transferencia de electrones y átomos de hidrógeno previniendo la oxidación (Wang *et al.*, 2020).

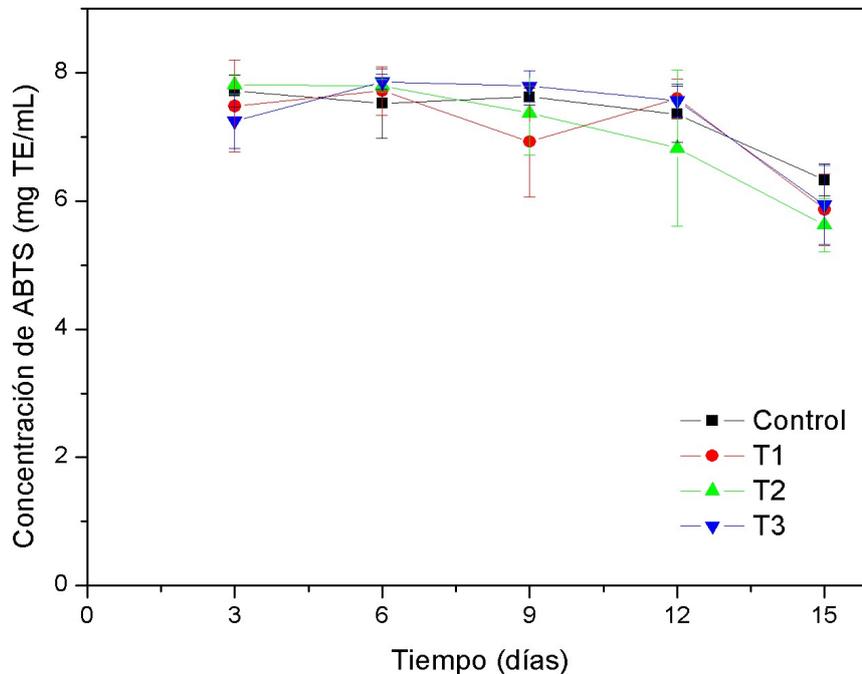


Figura 6. Determinación de ABTS del Control, T1, T2 y T3 durante los 15 días de fermentación.

4.1.5.3 FRAP

El método FRAP consiste en una reacción de reducción de oxígeno que ocurre entre antioxidantes y iones Fe^{3+} mediante transferencia de electrones, y los iones se reducen a Fe^{2+} , según lo determinado por un cambio de color (Martín *et al.*, 2013). Los resultados del ensayo FRAP muestran en la Figura 7. Se observó un aumento en la concentración conforme aumentaban los días de fermentación, sin tener diferencia significativa ($P < 0.05$) entre los tratamientos, siendo el tratamiento control y el T1 los tratamientos con mayor concentración de FRAP con 83.69 ± 2.19 mM TE/mL y 78.94 ± 2.82 mM TE/mL en los días 15 y 12 respectivamente. Mientras que el T2 y T3 mostraron su concentración más alta al día 12 de la fermentación con 55.10 ± 7.31 mM

TE/mL y 65.20 ± 8.46 mM TE/mL respectivamente. Las concentraciones son superiores a las reportadas por Aung *et al.*, (2021) donde se cuantificaron 5.26 mM TE/mL en té negro, 5.67 mM TE/mL en té verde y con infusión de alga 0.86 mM TE/mL. Lo anterior indica que la presencia de *A. vera* y *M. oleifera* incrementa la actividad antioxidante capaz de reducir los iones Fe por la presencia de compuestos fitoquímicos (Domínguez-Fernández *et al.*, 2012; Barragán *et al.*, 2023). Zubaidah *et al.* (2019). Este incremento en la actividad antioxidante se puede deber a una mayor afinidad por los iones hierro y radicales estructuralmente similares al catión ABTS (Wang *et al.*, 2020). Estudios reportan que, durante el proceso de fermentación, los microorganismos de la kombucha son capaces de realizar cambios en los componentes bioactivos presentes por la liberación de enzimas y el tipo de sustrato empleado para la fermentación (Ashrafi *et al.*, 2018; Jakubczyk *et al.*, 2020).

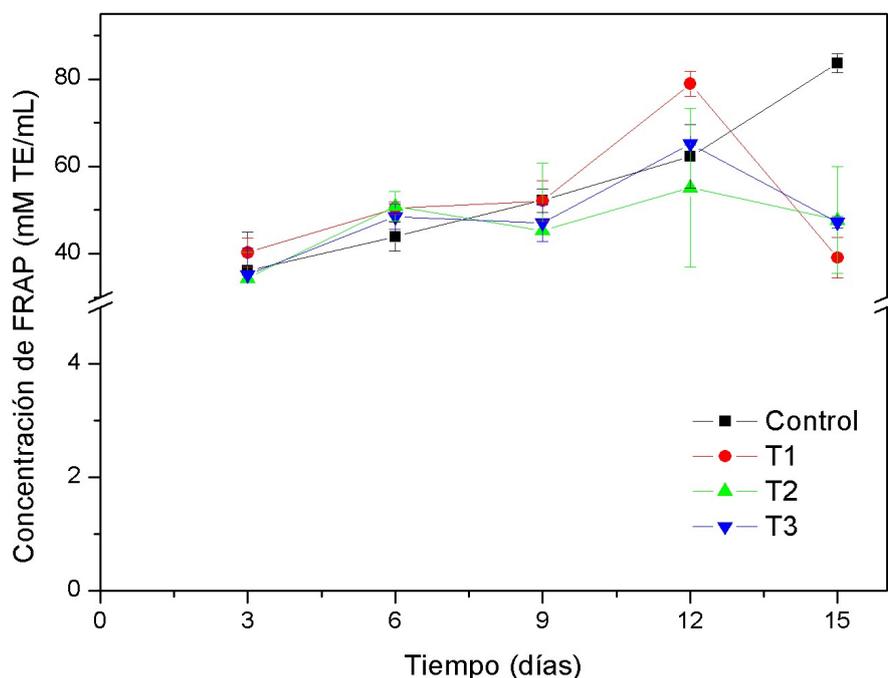


Figura 7. Determinación de FRAP del Control, T1, T2 y T3 durante los 15 días de fermentación.

5.1 Películas de Celulosa Bacteriana

Por los resultados obtenidos del fermentado, la caracterización química de la celulosa y el rendimiento obtenido, se seleccionaron las condiciones del tratamiento T1 (50% dextrosa y 50% *A. vera*) para producir celulosa y caracterizarla, por lo anterior los resultados en esta sección del documento que se mostrarán son exclusivamente de dicho tratamiento.



Figura 8. Película de celulosa bacteriana del T1

5.1.1 Rendimiento de Peso Seco (RPS)

Los resultados del rendimiento de peso seco (RPS) se muestran en el Cuadro 2. Se observa que no hay diferencia significativa ($P < 0.05$) entre las películas generadas en el tratamiento control y T1 obteniendo un RPS de 5.40 ± 0.01 y $9.16 \pm 0.02\%$ respectivamente. Sin embargo, en el T2 y T3 si se encuentran diferencia significativa ($P < 0.05$) obteniendo 3.55 ± 0.00 y 6.0 ± 0 % respectivamente. Siendo el T1 (50:50) el más parecido al control con un mayor rendimiento de celulosa bacteriana.

Cuadro 2. Rendimiento de peso seco (RPS) en celulosa bacteriana producida en un fermentado a partir de *M. oleifera* y *A. vera*.

Tratamiento	RPS (%)
Control	5.40 ± 0.01 ^a
T1	9.15 ± 0.02 ^a
T2	3.56 ± 0.00 ^b
T3	6.00 ± 0.00 ^c

5.1.2 Determinación de Antioxidantes, Compuestos Fenólicos y Azúcares Totales

Los valores de DPPH, ABTS, compuestos fenólicos y azúcares totales se muestran en el Cuadro 3. De acuerdo con lo reportado en estudios la actividad antioxidante de las películas de celulosa bacteriana puede ser atribuida a distintos compuestos bioactivos como fenoles, taninos y flavonoides que se encuentran presentes en el fermentado de kombucha (Zubaidah *et al.*, 2018; Márquez-Reyes *et al.*, 2022).

Cuadro 3. Determinación de antioxidantes, compuestos fenólicos y azúcares totales de la película de celulosa bacteriana.

Análisis	Resultado
DPPH (%)	49.97±2.91
ABTS (%)	65.85±5.32
Contenido de fenoles totales (mg GAE/mL)	24.24±2.18
Azúcares totales (mg/L)	36.84±0.65
FRAP (mM TE/mL)	253.40±3.46

Así mismo, los resultados también son consistentes con los reportados por Amorim *et al.*, (2022) en películas de celulosa bacteriana producidas a partir de una mezcla de té verde, té negro y glucosa, donde la actividad antioxidante de la película está relacionada con los polifenoles liberados en el medio de

fermentación y la capacidad de éstos compuestos para capturar radicales libres, encontrando para ABTS, 21.86 ± 1.53 % de inhibición; siendo tres veces mayor la inhibición obtenida en esta investigación (65.85 ± 5.32). En cuanto al contenido de fenoles totales, el valor de la película T1 fue de 24.24 ± 2.18 mg GAE/mL; este puede estar atribuido a la concentración de las moléculas presentes en el medio de cultivo de la kombucha, los cuales aumentan durante la fermentación, debido a la degradación de compuestos complejos en moléculas más simples por efecto de las enzimas liberadas por levaduras, hongos y bacterias, así como por el ambiente ácido (Ashrafi et al., 2018; Márquez-Reyes et al., 2022), las cuales son adsorbidas y absorbidas en la celulosa bacteriana.

El método FRAP muestra una concentración mayor para la película del T1 (253.40 ± 3.46 mM TE/mL) en comparación con lo obtenido en el fermentado de este mismo tratamiento (78.94 ± 2.82 mM TE/mL). Esto indica que la película tiene tres veces más concentración de hierro que el fermentado. En cuanto a la determinación de azúcares totales la concentración presente en la película es de 36.84 ± 0.65 mM TE/mL teniendo una disminución considerable de ciento cuarenta y dos veces menor respecto al fermentado con 5240 ± 576.22 mg/L. Dichas características de la película la hacen candidata a ser utilizada como un ingrediente activo en la formulación de alimentos funcionales por su alta actividad antioxidante y baja concentración de azúcares.

5.1.2 Actividad Antimicrobiana

Las películas secas de celulosa bacteriana resultantes del tratamiento T1 mostraron actividad antimicrobiana contra *S. Aureus*, *E. coli* y *Salmonella* (Figura 9). Los valores de actividad contra *Salmonella* (9.1 ± 0.65 mm) fueron significativamente ($P < 0.05$) más bajos que las cepas de *E. Coli* y *S. Aureus*, con un halo de inhibición de 9.83 ± 0.07 mm y 13.2 ± 0.66 mm respectivamente (Cuadro 4).

Cuadro 2. Actividad antimicrobiana de las películas de celulosa bacteriana

Muestras de película	Zona de inhibición <i>E. coli</i> (mm)	Zona de inhibición <i>S. Aureus</i> (mm)	Zona de inhibición <i>Salmonella</i> (mm)
Control	9.83±0.35 ^a	13.2±0.34 ^a	9.1±0.65 ^a
T1	0.23±0.07 ^b	0.45±0.66 ^b	3.28±0.50 ^a

Nota: Promedio ± desviación estándar

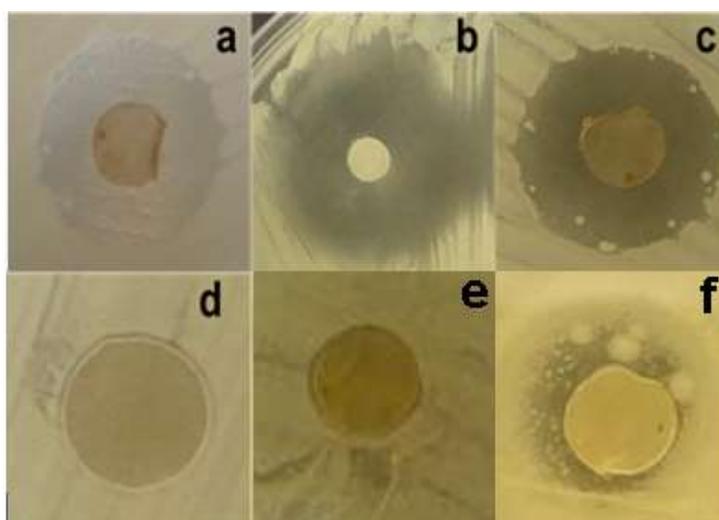


Figura 9. Actividad antimicrobiana a) *E. coli* control (b) *S. aureus* control, (c) *Salmonella*, (d) *E. coli*, (e) *S. aureus* y (f) *Salmonella*

Mohsin *et al.*, (2022) determinaron que la mayor parte de la actividad bactericida del té verde puede atribuirse a los polifenoles, específicamente a las catequinas. Esta actividad antibacteriana también se ha atribuido a los fitoquímicos presentes en las hojas de *M. oleifera* (Monteagudo Borges *et al.*, 2022). Borges en 1872, encontró una alta presencia de polifenoles y flavonoides en las hojas de diferentes especies de *M. oleifera* cultivadas en Cuba, lo que demostró que estos compuestos desempeñan un papel importante en la prevención del crecimiento microbiano. También es posible asociar este efecto inhibitor al *A. vera*, Athiban *et al.*, (2012), encontró que el *A. vera* tiene una actividad antimicrobiana atribuida a compuestos como p-ácido cumárico, ácido ascórbico, pirocatecol y ácido cinámico. Comprobando que la celulosa microbiana tiene la capacidad de atrapar distintos compuestos que se encuentran

presentes en el medio de fermentación.

5.1.3 Determinación de Color

Para la determinación de color de la celulosa bacteriana se obtuvieron las coordenadas CIE-L*a*b* para fondo blanco (FB) y fondo negro (FN). Fue posible observar que el parámetro en la coordenada rojo/verde (a*) es de 12.03 ± 0.92 para FB, mientras que para FN es de 3.27 ± 0.34 (Cuadro 5). En la coordenada amarillo/azul (b*) y cromaticidad (C*) para FB arroja parámetros de 37.7 ± 2.48 y 39.6 ± 2.45 respectivamente, mientras tanto para FN arroja parámetros de 12.63 ± 1.03 para b* y 13.08 ± 1.0 en C*. Para la luminosidad (L*) y el ángulo de tonalidad (H), los valores están en 67.52 ± 1.30 y 72.17 ± 1.41 para FB y para FN en 36.98 ± 1.25 (L*) y 75.36 ± 1.26 (H). Estos valores en las coordenadas indican que la película de celulosa bacteriana tiene una tendencia al color amarillo (Figura 10). El color que corresponde a estos parámetros es el #C89C60, siendo un color desconocido con nombre no específico, pero aproximado a un tono barbecho (Converting color).

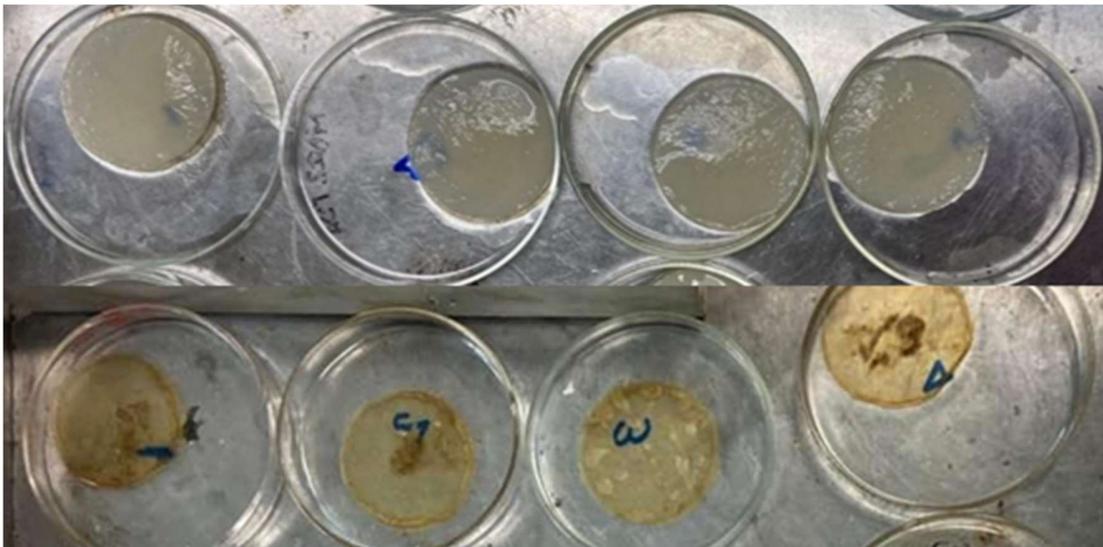


Figura 10. Películas de celulosa bacteriana húmedas y secas del a) Control, b) T1, c) T2 y d) T3.

Cuadro 3. Coordenadas CIE-L*a*b* de la celulosa bacteriana en fondo blanco (FB) y fondo negro (FN)

Fondo	a*	b*	C*	L*	H
Blanco	12.03±0.92	37.7±2.48	39.6±2.45	67.52±1.30	72.17±1.41
Negro	3.27±0.34	12.63±1.03	13.08±1.02	36.98±1.25	75.36±1.26

Nota. Media ± Desviación estándar.; a = coordenadas rojo/verde; b = coordenadas amarillo/azul; c = cromaticidad; L = luminosidad h = ángulo de tonalidad.

De acuerdo con Santos *et al.*, (2016), la evaluación del color es un parámetro importante que influye en la toma de decisión para la selección de las mejores películas de empaque. Sharma *et al.*, (2021) realizó una investigación con películas de nanocelulosa bacteriana y quitosano teniendo resultados en a* 0.02±0.00, b* 4.58±0.01 y L* 90.02±1.02, estos resultados dan parámetros por debajo de los obtenidos en esta investigación, dando una tonalidad más transparente. Sugiriendo que la tonalidad de la celulosa depende directamente del medio de fermentación.

5.1.4 Opacidad

La opacidad de la película de celulosa bacteriana del T1 se muestra en el Cuadro 6. Este parámetro es importante si se desea emplear la película como un material de empaque, ya que proporciona información sobre la cantidad de luz que pasa a través de la matriz del material. La opacidad fue de 33.1±2.77 %, esto indica que es una película con poca transparencia, es decir con una alta opacidad.

La opacidad obtenida por Sharma *et al.*, (2021) en películas de nanocelulosa bacteriana y nanocelulosa bacteriana con quitosano fluctuaron entre 20.46 - 28.67%, obteniendo mayor opacidad en esta investigación. Este factor actúa como un punto importante para el propósito para el que será utilizada la película de celulosa bacteriana. Si se deseará utilizarse y que podría afectar como material de empaque para algunos productos podría afectar su apariencia.

5.1.5 Espectroscopia Ultravioleta-Visible (UV)

La Figura 11 muestra una clara diferencia en la absorbancia entre la película de celulosa bacteriana fermentada en el control con té verde y la obtenida en T1. Especialmente en el rango UV (200-300 nm). El T1 mostró una mayor absorción de luz en comparación con el control, teniendo la mayor absorción entre los 300 y 200 nm.

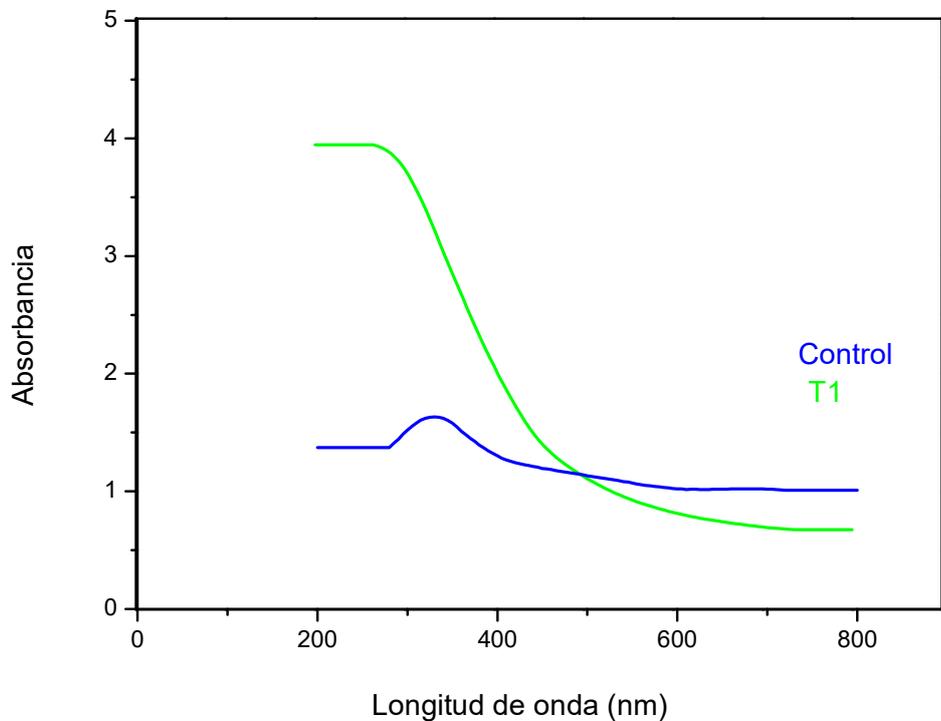


Figura 11. Gráfica de espectroscopia ultravioleta-visible (UV) del T1 con absorbancias de 200 a 800nm.

El comportamiento observado en la Figura 11 es similar al reportado previamente en la literatura con películas de celulosa recubiertas con quitosano (Márquez-Reyes *et al.*, 2022) y películas a base de celulosa (Orelma *et al.*, 2020).

5.1.6 Transparencia Relativa

La transmisión de luz de la película se muestra en el Cuadro 6 (medida a 600nm) fue de 11.67 ± 1.83 A600/mm, este resultado está muy por encima de lo reportado por Shivangi *et al.*, (2021) en películas de pectina (control), pectina con extracto con hoja de morera, pectina con desoxinojirimicina y pectina con ácido clorogénico; con valores que fluctuaron entre 0.613 a 1.065 (A600/mm). Esto es un indicativo de que la película del tratamiento T1 presenta una baja transmisión de luz, lo que podría afectar si se utiliza en para embalaje en la industria alimentaria. Las propiedades ópticas son muy importantes en el análisis de películas y recubrimientos, especialmente si la película será utilizada para alimentos (Falguera *et al.*, 2011). Sin embargo, su alta opacidad, transparencia y absorción de la luz le da características para poder ser utilizado como espesante, estabilizante y ligante en muchos productos alimenticios (Thompson y Hamilton, 2001), tal es el caso de las películas generadas en la presente investigación.

5.1.7 Ensayo de Biodegradabilidad

La biodegradabilidad se define como la capacidad de un material para descomponerse en carbohidratos, metano, agua, compuestos orgánicos o biomasa, y es principalmente la actividad enzimática de microorganismos probados específicos, medida mediante pruebas estandarizadas (López, Rivas, Loaiza y Sabino, 2010). El ensayo de biodegradabilidad de la película se muestra en la Figura 12. Se observó que la pérdida de peso (WL) fue aumentando los primeros 20 días, sin embargo, en los días 30 y 33 se observó una disminución en WL y a partir del día 36, la degradación fue completa (100%) En la Figura 13 se observa la degradación de la celulosa a lo largo del tiempo durante 50 días.

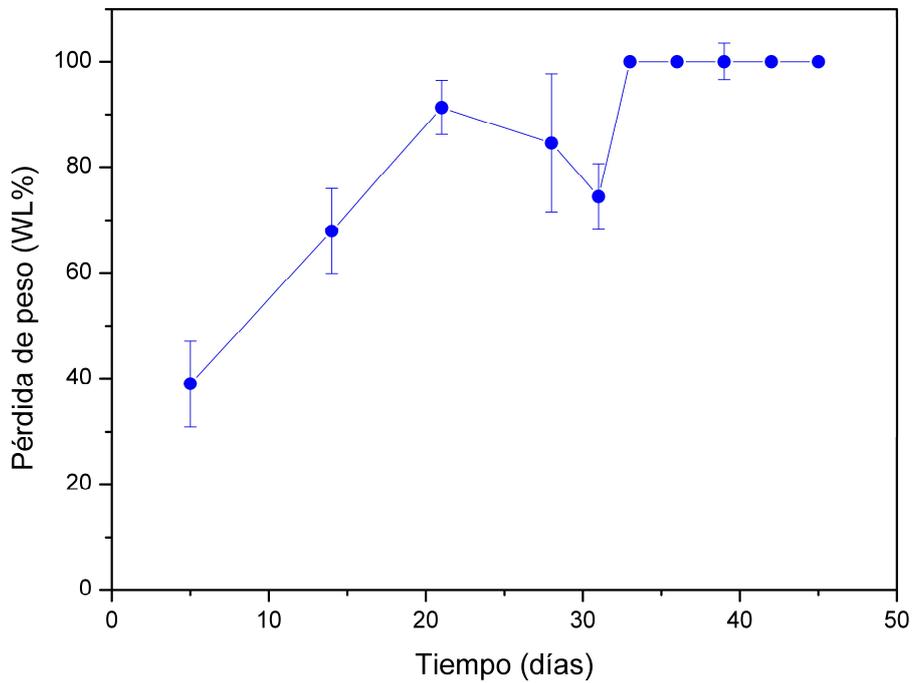


Figura 12. Ensayo de biodegradabilidad en porcentaje de pérdida de peso (WL%) de la celulosa bacteriana

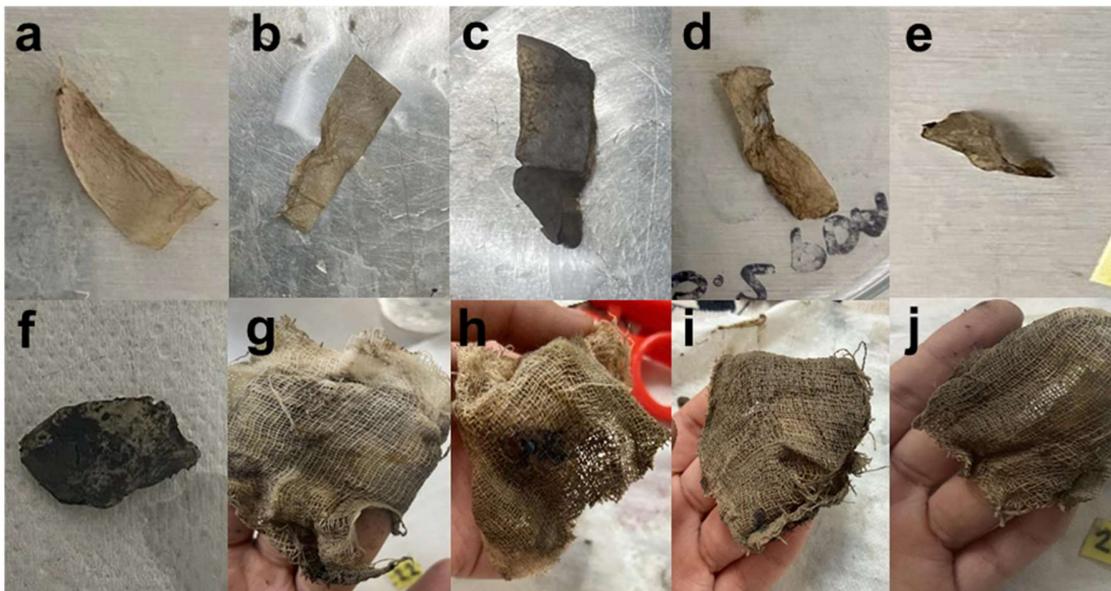


Figura 13. Aspecto visual de la película del T1 a diferentes tiempos de desintegración. (a) día 5, (b) día 14, (c) día 21, (d) día 28, (e) día 31, (f) día 33, (g) día 36, (h) día 39, (i) día 42, (j) día 45

El tiempo de degradación concuerda con lo reportado por Shivangi *et al.*, (2021), donde una película comestible a base de pectina con extractos de hoja morera que contiene componentes bioactivos como desoxinojirimicina y ácido clorogénico presentó una degradación cercana al 90% a los 30 días.

5.1.8 Solubilidad en Agua

Como se muestra en el Cuadro 6 la película tiene una solubilidad en agua líquida a temperatura ambiente del 63.33 ± 8.18 %. Bodvik *et al.*, (2010) reportó que “la celulosa en si misma es insoluble en agua debido a los muchos y fuertes enlaces de hidrogeno”. El comportamiento observado posiblemente sea a los compuestos adsorbidos en la superficie de la celulosa incluidos el crecimiento celular, los cuales se desprendieron durante la prueba de solubilidad. Khoshgozaran-Abras *et al.*, (2012) realizó una investigación con películas a base de quitosano y gel de *A. vera*, donde la presencia de gel de *A. vera* redujo la solubilidad en comparación con las películas de quitosano simple que eran completamente solubles en agua ($100.00 \pm 0.00\%$), sin embargo, la menor solubilidad en agua pertenecía a la película en donde la mezcla constaba de 10% *A. vera* y 90% quitosano obteniendo una solubilidad del 45.12 ± 2.11 % y al aumento de la proporción de gel de *A. vera* (50 % *A. vera* y 50 % quitosano), aumento de solubilidad en agua a las películas ($59.99 \pm 4.40\%$).

Cuadro 4. Caracterización de la celulosa bacteriana.

Análisis	Resultado
Opacidad (%)	33.1 ± 2.77
Transparencia relativa (A600/mm)	11.67 ± 1.83
Solubilidad en agua (%)	63.33 ± 8.18

5.1.9 Permeabilidad al Vapor de Agua

La permeabilidad al vapor de agua se muestra en la Figura 14, se puede observar que el contenido de humedad de la película estuvo en el rango de 0.0 a 2.08×10^{-2} g/m.s.Pa. Este aumento en el contenido de humedad se debe a que la celulosa es un

material hidrófilo debido a que los grupos polares (grupos amino y grupos hidroxilo) que interactúan con las moléculas de agua, provocando un cambio estructural significativo. Estos cambios estructurales alteran la distribución de las moléculas de agua, produciendo cambios en los valores de permeabilidad al vapor de agua (Cazón Díaz, 2020). El hinchamiento de la película aumenta la movilidad de las cadenas poliméricas y facilita la difusión de agua a través del material de la matriz polimérica. Esto conduce a un aumento de la permeabilidad al vapor de agua, que se vuelve más pronunciado con contenidos de humedad elevados (Chinnan y Park, 1995; Roy *et al.*, 2000; Su *et al.*, 2010; Cazón Díaz, 2020)

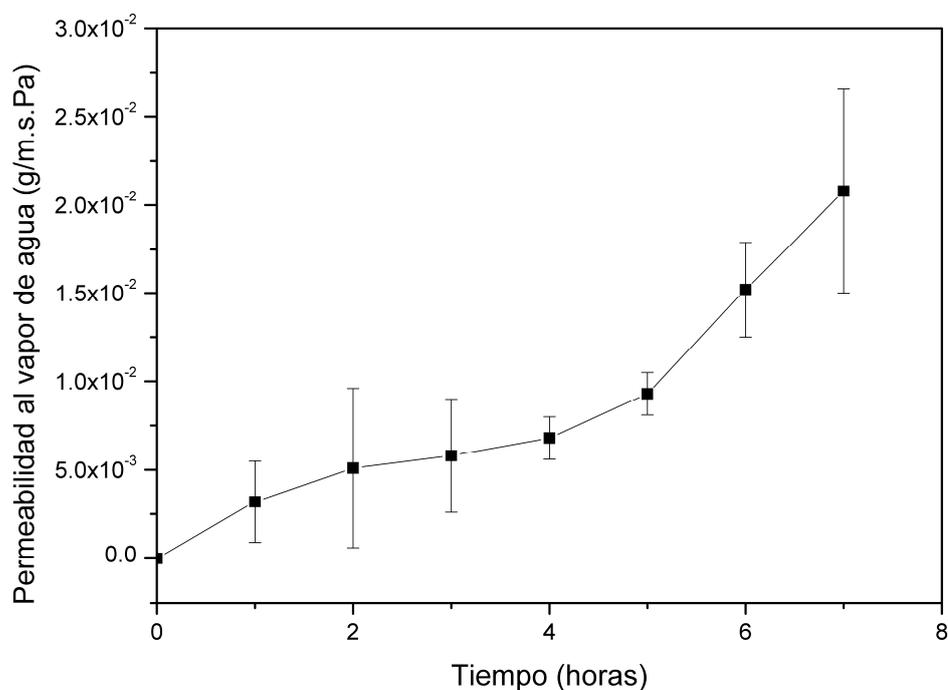


Figura 14. Permeabilidad al vapor de agua durante 7 horas

5.1.10 FTIR-ATR

Se utilizó el análisis FTIR-ATR para identificar los picos de absorción correspondientes a vibraciones de enlaces de los grupos funcionales que se encuentran presentes en la matriz estructural de la película de celulosa (Figura 15). El

pico presente en 3342.43 cm^{-1} se puede atribuir al estado vibratorio de los grupos O-H, mientras que el pico de 2895.81 cm^{-1} se asocia con el estado vibratorio de la extensión de los grupos C-H en la membrana de celulosa y el pico de 1731.06 cm^{-1} se puede atribuir con los modos de vibraciones de extensión de carbonilo pertenecientes al grupo aldehído, que puede existir en forma hemiacetal, acetal y/o hidratos (Babac y Kutsal 2009; Young *et al.*, 2020). El pico en 1626.66 cm^{-1} podría corresponder a las vibraciones de deformación de los grupos O-H de la molécula de agua ya que es cercano a los 1651 cm^{-1} mencionado por Young *et al.*, (2020). Asimismo, los diferentes picos de absorción en el intervalo de $1600\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ son sensibles a transformaciones químicas y estructurales; como las observadas a 1426.19 , 1314.46 , 1206.25 cm^{-1} cuya intensidad de alguna de ellas puede determinar los índices de cristalinidad de la muestra de celulosa (Kruer-Zerhusen *et al.*, 2017; Atykyan *et al.*, 2020). Mientras que el pico en 1106.87 cm^{-1} está asociado a los modos vibracionales de C-O y el pico en 1030.58 cm^{-1} a vibraciones de los carbohidratos, anillos y grupos secundarios (C-O-C; C-OH), confirmando la presencia de enlaces glicosídicos β -1,4 en el polímero (Tapias *et al.* 2023). Estos picos podrían estar asociados a los movimientos vibratorios de las moléculas de glucosa que constituyen en la matriz de la celulosa, que es el principal componente de las películas (Cerrutti *et al.*, 2016; Makarem *et al.*, 2019; Sharma y Bhardwaj, 2020). De acuerdo a los picos encontrados por Tuya Salas *et al.*, (2021) el pico en 1054.60 cm^{-1} está relacionado a las vibraciones grupo C-O ya que es cercano a los 1059.65 cm^{-1} que ellos encontraron. Los espectros y vibraciones de los grupos son similares a otras celulosas de origen bacteriano y vegetal reportados en otras investigaciones (Oh *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2017).

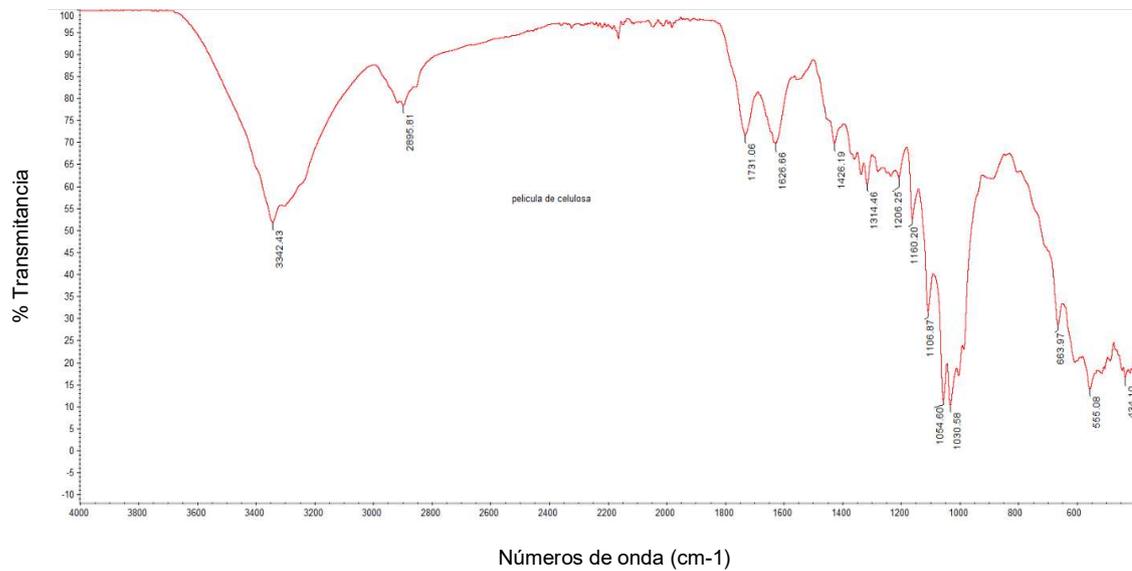


Figura 15. Espectro FTIR-ART de la celulosa bacteriana

5.1.11 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

La Figura 16 muestra las imágenes obtenidas por microscopia electrónica de barrido de la película de celulosa bacteriana. Se puede observar que la película tiene una superficie rugosa, sin grietas ni poros, sin embargo, se observan partículas diminutas en la superficie que podrían estar asociadas al gel de *A. vera* (Ibargüen, Pinzón y Arbelaez 2015).

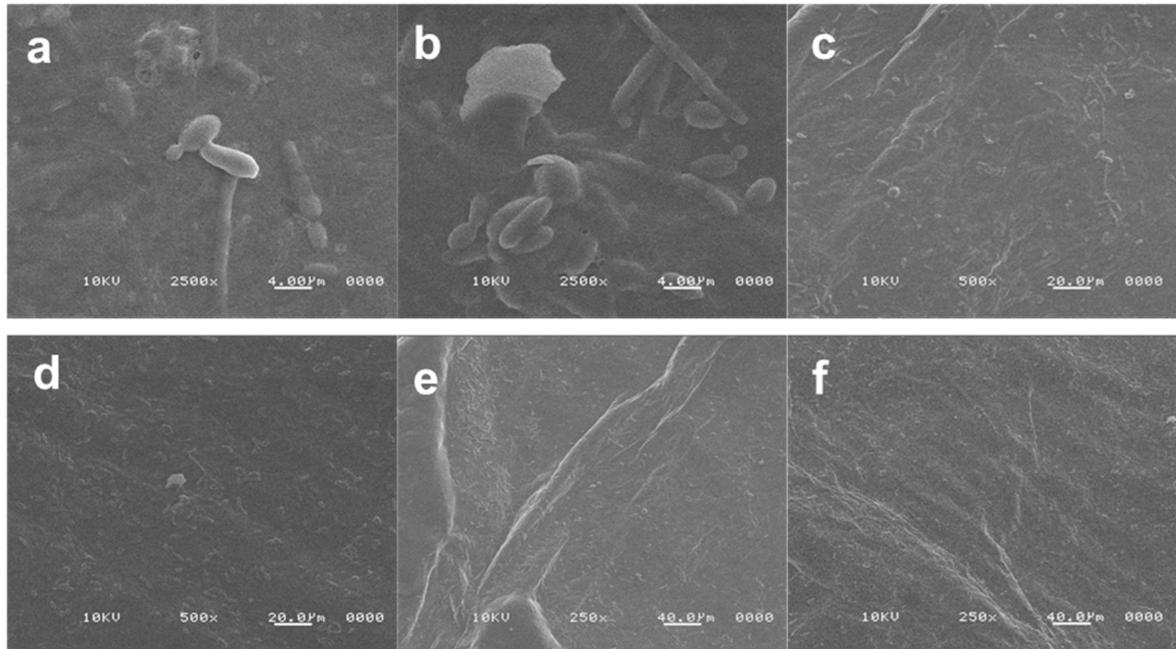


Figura 16. Imágenes obtenidas por microscopia electrónica de barrido de la película de celulosa bacteriana observada a: (a) 2500x, (b) 2500x, (c) 500x, (d) 500x, (e) 250x y (f) 250x.

5.1.12 Análisis de Difracción de Rayos X (DRX)

El análisis de difracción de rayos X es una técnica muy importante para mostrar la miscibilidad de tanto de los polímeros como de la cristalinidad de la película. En la Figura 17 se muestra el comportamiento de la película. Se puede observar que el pico predomina en 37.82° , este resultado es similar a lo obtenido por Mauleón Tolentino (2019), que obtuvo un pico en 36.23° en extracto de *M. oleifera*, y se menciona que el pico es característico del óxido de zinc (ZnO). Ibargüen, Pinzón y Arbelaéz (2015), realizaron una investigación con películas a base de gel de *A. vera* y obtuvieron un pico predominante de 16.4° , lo cual se puede interpretar como una mayor cristalinidad, por lo tanto, estos cambios en los patrones de difracción son un indicativo de que algún tipo de interacción de unión ocurrió cuando se mezclan el *A. vera* con la moringa.

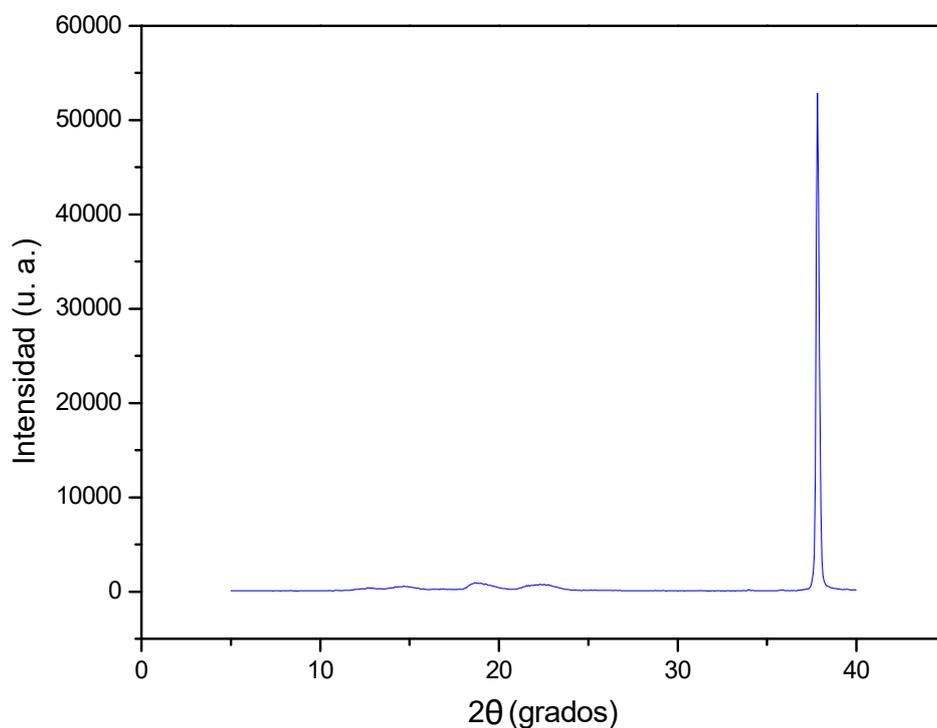


Figura 17. Análisis de difracción de rayos X de la celulosa bacteriana.

5.1.13 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

La gráfica de calorimetría diferencial de barrido se muestra en la Figura 18. Se puede observar que la fase vítrea comienza a los 51.85 °C, con un pico endotérmico a los 57.84 °C y requirió 0.9 J/g para el cambio de fase. También, se puede observar que se encuentran dos fusiones de un polímero semicristalino a los 119.94 °C y 281 °C y requieren 61.56J/g para su transformación. Mientras que la degradación o combustión de la película empieza a los 281°C. Algunos autores mencionan que los picos endotérmicos entre 50-110 °C, están asociados a la pérdida de agua adsorbida (Vázquez *et al.*, 2021; Priyadarshi *et al.*, 2018). Sánchez *et al.*, (2020), caracterizaron el gel de *A. vera* y obtuvieron tres picos endotérmicos a 68, 170 y 223 °C, los cuales están relacionados con la pérdida de agua de los grupos hidrófilos del polímero, la despolimerización del polímero y las reacciones de degradación térmica, respectivamente. Nema (2012), menciona que el perfil de descomposición térmica

obtenida en el gel de *A. vera* puede atribuirse a la presencia de acemanano presentes en el gel. Resultados similares muestran Vázquez *et al.*, (2021) en películas a base de una mezcla de celulosa bacteriana, glicerol y quitosano, en donde obtienen un pico endotérmico en el rango de 50-110°C y obtienen una volatilización del agua que resulta en una pérdida de peso que va de los 6.74-10.2 % en el primer pico endotérmico, mientras que el segundo pico endotérmico se mostró en temperaturas que van de 170-230°C con una pérdida de peso del 40.13-53.21% y la tercera región osciló entre los 230-350°C. Yan *et al.*, (2017) menciona que la temperatura de inicio de degradación térmica de la celulosa bacteriana es de 250°C. Todos estos estudios concuerdan con lo reportado en la presente investigación, donde las variaciones en las temperaturas pueden deberse a la presencia de compuestos que quedan atrapados en la celulosa durante la formación de la película.

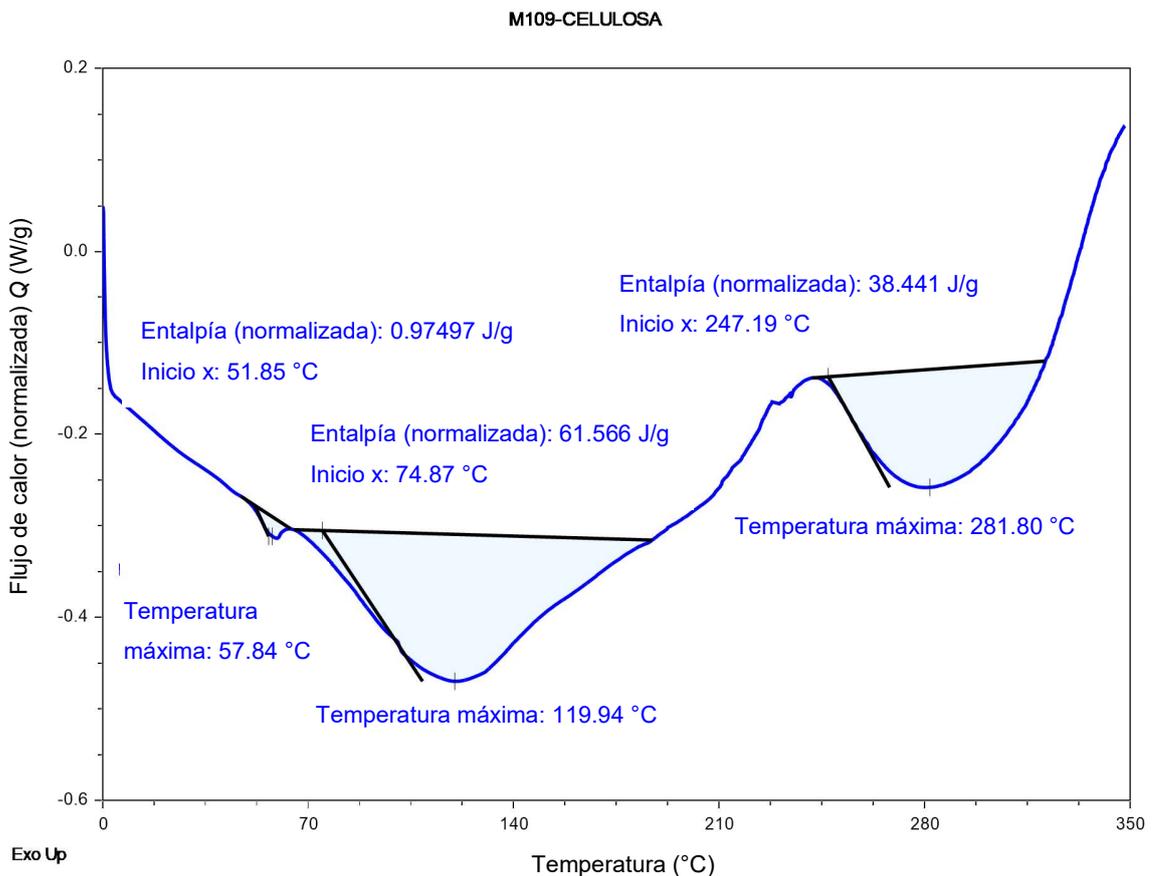


Figura 18. Calorimetría diferencial de barrido (DSC) de la película de celulosa.

5.1.14 Análisis Termogravimétrico (TGA)

En la Figura 19 se muestra la gráfica de análisis termogravimétrico de la celulosa. En esta gráfica se puede observar que la fase vítrea comienza a los 96.02 °C donde el 4.7 % de la masa comienza a cambiar seguido de otro cambio a los 155.5 °C con un cambio de masa de 3.8 % y finalmente la fase termina a los 224.5 °C donde se modifica el 15.6 % de la masa. La fusión de la celulosa ocurre a los 346.6 °C y por arriba de los 375 °C la celulosa se degrada. Un comportamiento similar obtuvieron Torrelles *et al.*, (2015), en películas con nanocristales de celulosa, donde reportaron una pérdida de 2.4 % en su masa inicial por su calentamiento desde temperatura ambiente hasta 130 °C y a temperaturas de 150-350 °C obtienen aproximadamente una pérdida del 60 % de masa. Este resultado es similar a lo obtenido en esta investigación.

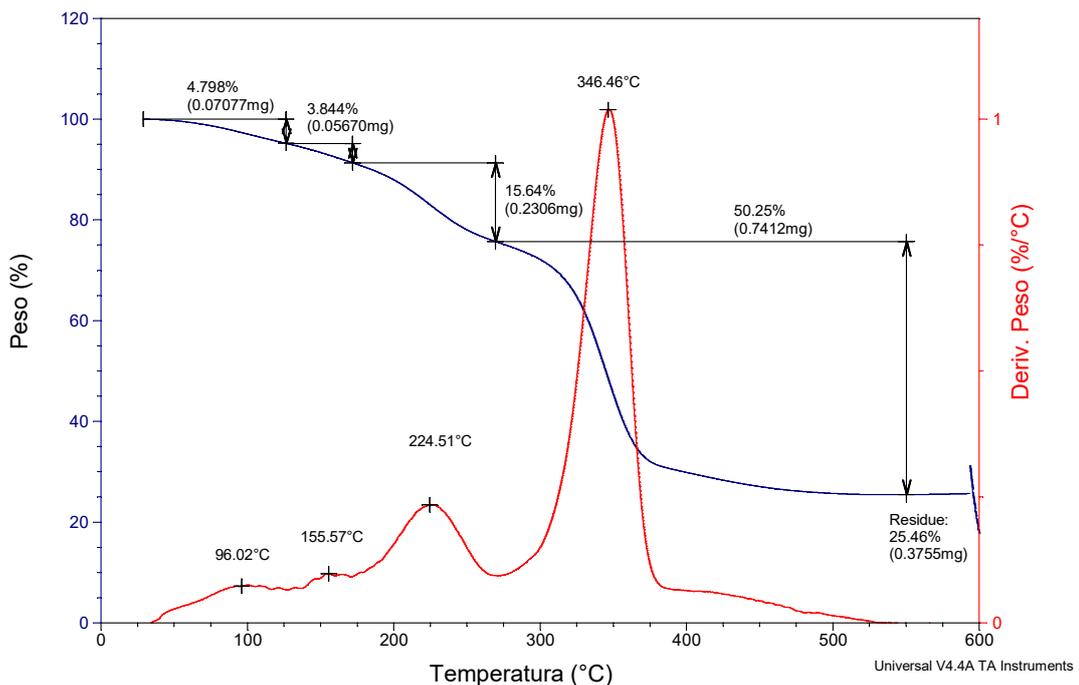


Figura 19. Análisis termogravimétrico de la celulosa.

5.1.15 Propiedades Mecánicas

Las propiedades mecánicas de la película de celulosa bacteriana se muestran en el Cuadro 10. La película de celulosa bacteriana obtuvo un espesor promedio de 0.141

± 0.02 mm y un ancho de 12.89 ± 0.11 mm. También se puede observar que obtuvo una fuerza de cedencia de 11.4 ± 5.6 N y una resistencia tensión a la cedencia de 6.2 ± 3 MPa. Asimismo, obtuvo una fuerza máxima de 12.2 ± 6.1 MPa, y una resistencia a la fuerza máxima de tensión de 6.6 ± 3.2 MPa, además de una ruptura de 11.3 ± 6.6 N y una resistencia a la tensión de ruptura de 6.1 ± 3.5 MPa. También obtuvo una elongación de cedencia de $5.09 \pm 2.5\%$ y una elongación de ruptura de $5.6 \pm 3\%$. Estas propiedades son características vitales para comprender el comportamiento de biomateriales durante sus aplicaciones prácticas, es decir, embalaje y envío (Smith y Hui, 2004). Ibargüen, Pinzón y Arbelaéz (2015) realizaron una investigación con películas comestibles a base de *A. vera* y obtuvieron un espesor de $0.0169 \pm 5.353 \times 10^{-4}$ mm De acuerdo con lo informado por Betlej et al., (2020) el espesor de la celulosa producida por los microorganismos de kombucha aumenta con cantidades crecientes de sacarosa, peptonas y extractos de té en el medio. La película de celulosa bacteriana del T1 obtuvo un espesor de 0.072 ± 0.014 mm. Khoshgozaran-Abras et al., (2012) reporta en su investigación con películas de quitosano incorporando *A. vera* que el espesor de las películas se vio afectado significativamente por la incorporación de *A. vera*, por lo que un aumento en la relación del gel de *A. vera* versus quitosano del 0 al 50 % llevó a una reducción considerable en el espesor de las películas obteniendo un valor de 0.213 mm en una película de quitosano solo y 0.163 mm para el tratamiento con 50% de *A. vera*. El espesor obtenido es bajo en comparación de otros estudios, lo cual está relacionado con el rendimiento y la probable actividad antimicrobiana de la mezcla de especies vegetales utilizadas para la fermentación.

Tapias *et al.*, (2023), realizaron una investigación con películas de celulosa bacteriana a base de yerba mate y obtuvieron una resistencia de tensión máxima de 25.1 ± 4.1 MPa y una elongación de ruptura de $6.91 \pm 2,34\%$, valores superiores a los reportados en la presente investigación.

Cuadro 5. Propiedades mecánicas de la celulosa bacteriana.

Espesor promedio (mm)	0.141 ± 0.02
Ancho promedio (mm)	12.89 ± 0.11
Fuerza cedencia (N)	11.4 ± 5.6
Resistencia tensión a la cedencia (MPa)	6.2 ± 3
Fuerza máxima (N)	12.2 ± 6.1
Resistencia tensión máxima (MPa)	6.6 ± 3.2
Fuerza ruptura (N)	11.3 ± 6.6
Resistencia tensión ruptura (MPa)	6.1 ± 3.5
Elongación de cedencia (%)	5.09 ± 2.5
Elongación de ruptura (%)	5.6 ± 3

CONCLUSIONES

- Las variables de pH y acidez de los distintos tratamientos se encuentran dentro del rango de una fermentación exitosa de kombucha.
- Utilizar *M. oleifera* y *A. vera* para la elaboración de kombucha es una buena alternativa debido al aporte de compuestos bioactivos.
- Durante la fermentación de los distintos tratamientos se observó un incremento en la actividad antioxidante del radical DPPH, concentración de fenoles y la actividad reductora del hierro.
- El consumo de azúcar fue similar entre los tratamientos, lo cual indica que se puede sustituir la dextrosa por mucilago de *A. vera*, disminuyendo la concentración de azúcares añadidos y abaratando los costos de producción.
- También se demostró que el porcentaje de *A. vera* influye en la formación de la película de celulosa bacteriana.
- El T1 (50:50) fue el tratamiento que obtuvo mayor actividad química y mayor RPS de celulosa bacteriana, por tal motivo se eligió para caracterizar la película generada.
- La película obtuvo efectividad contra bacterias Gram negativas y Gram positivas, sin embargo, obtuvo mayor actividad antimicrobiana contra *Salmonella*.
- Se demostró que la celulosa bacteriana elaborada a partir de la fermentación de *M. oleifera* y *A. vera* cumple con algunas características deseables para un material de embalaje (opacidad, actividad antioxidante, actividad antimicrobiana) o ingrediente activo.
- La película obtuvo una degradación completa a partir del día 36.
- La película también obtuvo una solubilidad en agua del 63.33% lo cual puede estar asociado a los compuestos adsorbidos en la superficie de la celulosa incluidos el crecimiento celular que se desprendieron durante la prueba de solubilidad.
- La película adquirió un color con tendencia al amarillo. Sugiriendo que la tonalidad de la celulosa depende directamente del medio de fermentación.

- La película obtuvo una superficie rugosa, sin grietas ni poros, con partículas que podrían estar asociadas al gel de *A. vera*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdel-latif, H. M. R.; Abdel-daim, M. M.; Shukry, M. and Nowosad, J. (2022). Benefits and applications of *Moringa oleifera* as a plant protein source in Aquafeed : A review. *Aquaculture*, 547(January 2021).
- Abercron, S. M., and Pacheco-Sánchez, D. (2023). Bacterial cellulose: a highly versatile nanomaterial. *Microbial biotechnology*, 16(6), 1174-1178.
- Alimentación saludable. (s. f.). OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud. <https://www.paho.org/es/temas/alimentacion-saludable>
- Almeida, M. M. B.; de Sousa, P. H. M.; Arriaga, Â. M. C.; do Prado, G. M.; Magalhães, C. E. de C.; Maia, G. A. and de Lemos, T. L. G. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*, 44(7), 2155–2159.
- Aly, A. A.; Zaky, E. A.; Khatab, N. R. and Hameed, A. M. (2022). The Biological and Chemical Ameliorative Effects of Bread Substituted with Dried Moringa Leaves. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(7), 103875.
- AL-Kalifawi, E. J. and Hassan, IA (2014). Factores que influyen en el rendimiento de celulosa bacteriana de Kombucha (Khubdat Humza). *Revista científica de Bagdad*, 11(3), 1420–1428.
- Amarasekara, A. S.; Wang, D. and Grady, T. L. (2020). A comparison of kombucha SCOBY bacterial cellulose purification methods. *SN Applied Sciences*, 2(2), 1–7.
- Anwar, F.; Ashraf, M., and Bhanger, M. I. (2005). Interprovenance variation in the composition of moringa oleifera oilseeds from Pakistan. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 82(1), 45-51.
- Anwar, F.; Latif, S.; Ashraf, M. and Gilani, A. H. (2006). Moringa oleifera: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytotherapy Research*, 21(1), 17-25.
- Ashrafi, A.; Jokar, M. and Nafchi, A. M. (2018). Preparation and characterization of biocomposite film based on Chitosan and kombucha tea as active food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 108, 444-454.
- Atykuan, N.; Ревин, В. В. and Шутова, В. В. (2020). Raman and FT-IR spectroscopy

- investigation the cellulose structural differences from bacteria gluconacetobacter sucrofermentans during the different regimes of cultivation on a molasses media. *AMB Express*, 10(1).
- Aung, T., & Eun, J. B. (2021). Production and characterization of a novel beverage from laver (*Porphyra dentata*) through fermentation with kombucha consortium. *Food chemistry*, 350, 129274.
- Babac, C.; Kutsal, T. y Pişkin, E. (2019). Producción y Caracterización de Membranas de Celulosa Bacteriana Biodegradables. *Revista Internacional de Ciencias Naturales y de Ingeniería*, 3(2), 19 –22.
- Bautista-Baños, S.; Hernández-Lauzardo, A. N.; Valle, M. G. V.; Hernández-López, M.; Barka, E. A.; Bosquez-Molina, E. and Wilson, C. L. (2006). Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection*, 25(2), 108-118.
- Bielecki, S., Krystynowicz, A., Turkiewicz, M., & Kalinowska, H. (2002). Bacterial cellulose. *Biopolymers Online*.
- Benítez, S.; Achaerandio, I.; Pujolà, M. and Sepulcre, F. (2015). *Aloe vera* as an alternative to traditional edible coatings used in fresh-cut fruits: A case of study with kiwifruit slices. *LWT - Food Science and Technology*, 61(1), 184–193.
- Витас, J., Vukmanović, S., Čakarević, J., Popović, L., & Malbaša, R. V. (2020). Kombucha fermentation of six medicinal herbs: chemical profile and biological activity. *Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly*, 26(2), 157-170.
- Caamal I.; Pereira F. y Madera T. (2011). Caracterización óptica y mecánica de películas comestibles a base de mezclas binarias de almidones de *Phaseolus lunatus* L, *Manihot esculenta* Crantz y *Zea mays* L. *Rev Iber Tecn Post*. 12, 101–109
- Cagri, A.; Ustunol, Z. and Ryser, E. T. (2004). Antimicrobial edible films and coatings. *Journal of food protection*, 67(4), 833–848.
- Cardoso, R. R.; Neto, R. O.; Dos Santos D'Almeida, C. T.; do Nascimento, T. P.; Pressete, C. G.; Azevedo, L.; Martino, H. S. D.; Cameron, L. C.; Ferreira, M. and S. L.,Barros, F. A. R. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities,

- antibacterial and antiproliferative activities. *Food research international (Ottawa, Ont.)*, 128, 108782.
- Cattan, Y.; Patil, D.; Vaknin, Y.; Rytwo, G.; Lakemond, C., and Benjamin, O. (2022). Characterization of moringa oleifera leaf and seed protein extract functionality in emulsion model system. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 75, 102903.
- Cerrutti, P.; Roldán, P.; García, R. M.; Galvagno, M. A.; Vázquez, A. and Foresti, M. L. (2016). Production of bacterial nanocellulose from wine industry residues: Importance of fermentation time on pellicle characteristics. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(14), 1–9.
- Chambi, H. and Grosso, C. R. F. (2010). Effect of surfactants on the functional properties of gelatin–polysaccharide-based films. *European Food Research and Technology*, 232(1), 63-69.
- Chawla, P., Bajaj, I.B., Survase, S.A., & Singhal, R.S. (2009). Celulosa microbiana: producción y aplicaciones fermentativas. *Tecnología y Biotecnología de los Alimentos*, 47, 107-124.
- Cuvas-Limón, R. B.; Julio, M. S.; Carlos, C. E. J.; Mario, C. H.; Mussatto, S. I. and Ruth, B. (2016). *Aloe vera* and probiotics: a new alternative to symbiotic functional foods. *Annual research & review in biology*, 9(2), 1-11.
- Czaja, W.; Krystynowicz, A.; Bielecki, S., and Brown, R. M. (2006). Microbial cellulose—the natural power to heal wounds. *Biomaterials*, 27(2), 145-151.
- Dada, A. P.; Lazzari, A.; De Oliveira Cestário, A. C.; Da Silva, D. S.; Saraiva, B. R.; Rosa, C. I. L. F. and Matumoto-Pintro, P. T. (2021). Caracterização de kombucha elaborado a partir de chá verde. *Research, Society and Development*, 10(15).
- Dagne, E.; Bisrat, D.; Viljoen, A. and Van Wyk, B. (2000). Chemistry of aloe species. *Current Organic Chemistry*, 4(10), 1055-1078.
- Dary, L., Pineda, C., Alfonso, L., & Mesa, C. (2012). Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión. *Ingeniería y Ciencia*. 8, 307–335.
- Davis, R. H. 1997. *Aloe vera: A Scientific Approach*; Vantage Press, New York.

- Valdés, D. F.; Baños, S. B.; Valdés, D. F.; Ramírez, A.; Pereira, A. G., y Rodríguez, A. F. (2015). Películas y recubrimientos comestibles: una alternativa favorable en la conservación poscosecha de frutas y hortalizas. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 24(3), 52-57.
- De Agricultura y Desarrollo Rural, S. (s. f.). ¿Qué es la poscosecha y por qué es importante? gob.mx. <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/que-es-la-poscosecha-y-por-que-es-importante#:~:text=La%20poscosecha%20se%20refiere%20al,y%20calidad%20de%20los%20productos>
- De Agricultura y Desarrollo Rural, S. (s. f.-b). Un buen manejo en la poscosecha es sinónimo de seguridad alimentaria. gob.mx. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/un-buen-manejo-en-la-poscosecha-es-sinonimo-de-seguridad-alimentaria?idiom=es>
- Díaz-Fuentes, V., Ruíz-Cruz, P., Gálvez-Marroquín, L., Martínez-Valencia, B., & Nájera-Domínguez, W. (n.d.). Nutritional composition in leaves of 20 genotypes of. 12, 29–34.
- Dickinson, E. (2009). Hydrocolloids as emulsifiers and emulsion stabilizers. *Food Hydrocolloids*, 23(6), 1473-1482.
- Domínguez-Fernández, R.; Arzate-Vázquez, I.; Chanona-Pérez, J.; Welti-Chanes, J.; Alvarado-González, J.; Garibay-Febles, V., y Gutiérrez-López, G. (2012). El gel de *Aloe vera*: Estructura, composición química, procesamiento, actividad biológica e importancia en la industria farmacéutica y alimentaria. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 11(1), 23–43.
- Dufresne, A.; Thomas, S., and Pothan, L. A. (2013). *Biopolymer nanocomposites: Processing, Properties, and Applications*. John Wiley & Sons.
- El-Sayed, S. M. and Youssef, A. M. (2019). Potential application of herbs and spices and their effects in functional dairy products. *Heliyon*, 5(6),
- Fahey, Jed. (2005). *Moringa oleifera*: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties. *Trees Life Journal*, 1(5), 1-15. 10.1201/9781420039078.ch12.
- Fakhouri, F. M.; Martelli, S. M.; Caon, T.; Velasco, J. I., and Mei, L. H. I. (2015). Edible

- films and coatings based on starch/gelatin: Film properties and effect of coatings on quality of refrigerated red crimson grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 109, 57-64.
- Falguera, V.; Quintero, J. P.; Jiménez, A. J. G.; Muñoz, J. A., and Ibarz, A. (2011). Edible Films and Coatings: structures, active functions and trends in their use. *Trends in Food Science and Technology*, 22(6), 292-303.
- Flores-Aguilar, Edilberto, y Flores-Rivera, Emille del Pilar. (2022). Capacidad antioxidante de extractos acuosos de hojas de moringa y elaboración de una bebida funcional. *Tecnología Química*, 42(2), 323-340.
- Gedefaw, M. (2015). Análisis del valor ambiental y medicinal de las especies de árboles de Moringa (*Moringa oleifera*) en Sanja, Gondar del Norte, Etiopía. *Revista internacional americana de investigación científica contemporánea*, 2 (9), 20-36.
- Gopalakrishnan, L.; Doriya, K. y Kumar, D.S. (2016) *Moringa oleifera*: una revisión sobre la importancia nutritiva y su aplicación medicinal. *Ciencia de los alimentos y bienestar humano*, 5, 49-56.
- Gutiérrez-Castañeda, J.; Hernández-guerrero, M.; Revah, S., y Vigueras, G. (2014). Producción de celulosa bacteriana a partir de kombucha (hongo del té) usando diferentes medios de cultivo. 19, 134267. <https://smbb.mx/congresos%20smbb/guadalajara15/PDF/XVI/trabajos/XI/XIC-02.pdf>
- Ibargüen, A; Pinzón M., y Arbelaéz L. 2015. "Elaboración y caracterización de películas comestibles a base del gel de *Aloe Vera* (*Aloe Barbadensis* Miller L.)." *Revista de alimentos Hoy* 23(36): 133–49.
- Isopencu, G. O.; Stoica-guzun, A.; Busuioc, C.; Stroescu, M., and Deleanu, I. M. (2021). Development of antioxidant and antimicrobial edible coatings incorporating bacterial cellulose, pectin, and blackberry pomace. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2(November 2020), 100057.
- Jakubczyk, A.; Karaś, M.; Rybczyńska-Tkaczyk, K.; Zielińska, E., and Zieliński, D. (2020). Current Trends of Bioactive Peptides—New sources and therapeutic

- Effect. *Foods*, 9(7), 846.
- Jayabalan, R.; Malbaša, R. V.; Lončar, E. S.; Витас, J., and 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.
- Jonas, R. y Farah, L. F. (1998). Production and application o microbial cellulose. Elsevier Science Limited, 101- 106.
- Jonas, R. Farah L. F. (1998b). Production and applications of microbial cellulose. *Polymer Degradation and Stability*, vol. 59, pp. 101 - 106, 1998. Referenciado en 308, 309, 311
- Kaewkod, T.; Bovonsombut, S., and Tragoolpua, Y. (2019). Efficacy of kombucha obtained from green, oolong, and black teas on inhibition of pathogenic bacteria, antioxidation, and toxicity on colorectal cancer cell line. *Microorganisms*, 7(12), 700.
- Kaya, M.; Khadem, S.; Çakmak, Y. S.; Mujtaba, M.; Torun, I.; Akyüz, L.; Salaberria, A. M.; Labidi, J.; Abdulqadir, A., and Deligöz, E. (2018). Antioxidative and antimicrobial edible chitosan films blended with stem, leaf and seed extracts of pistacia terebinthus for active food packaging. *RSC Advances*, 8(8), 3941-3950.
- Kester, J. J. y Fennema, O. (1986). Edible Films and Coatings: A Review. *Food Technology*, 40(12), 47-59.
- Kruer-Zerhusen, N., Cantero-Tubilla, B., & Wilson, D. B. (2017). Characterization of cellulose crystallinity after enzymatic treatment using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). *Cellulose* 2017 25:1, 25(1), 37–48.
- Larionova, M.; Menéndez-Castillo, R.; Valient-Hernández, O.; y Fusté-Moreno, V. (2004). Estudio químico de los polisacáridos presentes en Aloe vera L. y Aloe arborescens Miller cultivados en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 9(1).
- Laura, P. C. (2018, 1 mayo). *Inclusión de nanocompositos en recubrimientos comestibles y su capacidad antifúngica a hongos fitopatógenos en poscosecha*. <http://hdl.handle.net/11317/1540>
- Lin, D., and Zhao, Y. (2007). Innovations in the development and application of edible

- coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 6(3), 60–75.
- López-Díaz, A.; López-Malo, A., y Palou, E. (2015). Películas comestibles elaboradas a base de frutas y verduras. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos - Universidad de Las Américas Puebla*.
- López-Legarda, X., Taramuel-Gallardo, A., Arboleda-Echavarría, C., Segura-Sánchez, F., & Restrepo-Bentacur, L.F. (2017). Comparación de métodos que utilizan ácido sulfúrico para la determinación de azúcares totales. *Revista Cubana de Química*, 29(2), 180–198.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=443551310002>
- Maan, A. A.; Nazir, A.; Khan, M. K. I.; Ahmad, T.; Zia, R.; Murid, M., and Abrar, M. (2018). The therapeutic properties and applications of Aloe vera: A review. *Journal of Herbal Medicine*, 12, 1–10.
- Martín, C., Martín, G., García, A., Fernández, T., and Hernández, E. (2013). Potential applications of. 36(2), 150–158.
- Mayhuire, E. A.; Cuadros Huamaní, Y.; Zanardi, L. M., y Medina De Miranda, E (2019). Biopelículas producidas con cáscara de naranja y reforzadas con celulosa bacteriana. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 85(2), 231-241.
- Mizuta, A. G.; De Menezes, J. L.; Dutra, T. V.; Ferreira, T. V.; Castro, J. C.; Da Silva, C. A. J.; Pilau, E. J.; Machinski, M., and De Abreu Filho, B. A. (2020). Evaluation of antimicrobial activity of green tea kombucha at two fermentation time points against *Alicyclobacillus* spp. *LWT*, 130, 109641.
- Mohsin, A. Z.; Nor, N. A. M.; Muhialdin, B. J.; Roby, B. H. M.; Abadi, M. M. T.; Marzlan, A. A.; Hussain, N., and Hussin, A. S. M. (2022). The effects of encapsulation process involving arabic gum on the metabolites, antioxidant and antibacterial activity of kombucha (fermented sugared tea). *Food hydrocolloids for health*, 2, 100072.
- Navarro-Tarazaga, M. Ll. (2007). Efecto de la composición de recubrimientos comestibles a base de hidroxipropilmetilcelulosa y cera de abeja en calidad de ciruelas, naranjas y mandarinas. Pp 1-223. (Tesis doctoral). Universitat Politècnica de València, VA, España.

<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/1923/tesisUPV2699.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Neffe-Skocińska, K.; Sionek, B.; Ścibisz, I., y Kołożyn-Krajewska, D. (2017). Contenido de ácido y efectos de las condiciones de fermentación en las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de bebidas de té de Kombucha. *CYTA - Journal of Food*, 15(4), 601–607.
- Oh, S. Y.; Yoo, D. I.; Shin, Y., and Seo, G. (2005). FTIR analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide. *Carbohydrate Research*, 340(3), 417-428.
- Oyeyinka, A. T., and Oyeyinka, S. A. (2018). *Moringa oleifera* as a Food Fortificant: Recent trends and prospects. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 17(2), 127-136.
- Parreidt, T. S.; Müller, K., and Schmid, M. (2018). Alginate-Based edible films and coatings for food packaging applications. *Foods*, 7(10), 170.
- Pérez-Benites, V., Fuentes -Minjares, J., Martínez-García, J., Gonzales-Baez, G., & Candelas Cadillo, M. (2019). Composición química, propiedades físicas y reológicas del mucílago de *Aloe barbadensis Miller*. *Investigación y Desarrollo En Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4(2005), 902–906.
- Pineda, L. D. C.; Mesa, L. A. C., y Riascos, C. A. (2012). Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión. *Ingeniería y Ciencia*, 8(16), 307-335.
- Quintero, C. J.; Falguera, V., and Muñoz, H. A. (2010). Films and edible coatings: importance, and recent trends in fruit. *Revista TUMBAGA*, 5(1), 93–118.
- Raghav, P.K.; Agarwal, N.; Saini, M.; Vidhyapeeth, J.; Vidhyapeeth, J. (2016). Edible Coating of Fruits and Vegetables, *International J. Sci. Mod. Educ.*, 1(1), 188–204.
- Rasoul, S.; Rahmati-joneidabad, M., and Noshad, M. (2021). International Journal of Biological Macromolecules Effect of chia seed mucilage / bacterial cellulose edible coating on bioactive compounds and antioxidant activity of strawberries during cold storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 190(June), 618–623.

- Reynolds, T. and Dweck, A. C. J. (1999). *Ethnopharmacol*, 68, 3
- Rhim, J. (2004). *Food science and biotechnology*
- Rhim, J.W.; Thomas, H. and Shellhammer, T. H. (2005). Lipid-based edible films and coatings. *Innovations in Food Packaging*. London, UK: Elsevier Ltd, pp. 362-383.
- Rodríguez, Juan Pablo (2022). Producción y caracterización de películas bioactivas de celulosa microbiana en un sustrato de moringa (moringa oleífera) y recubrimientos de mucílago de linaza (linum usitatissimum)
- Rojas-Graü, M. A.; Tapia, M. S.; Rodríguez, F.; Carmona, A., and Belloso, O. M. (2007). Alginate and gellan-based edible coatings as carriers of antibrowning agents applied on fresh-cut fuji apples. *Food Hydrocolloids*, 21(1), 118-127.
- Rojas, J. J.; García, A. M., y López, A. J. (2005). Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 4(2), 28-32.
- Sahay, S., Yadav, U. y Srinivasamurthy, S. (2017). Potencial de Moringa oleifera como ingrediente alimentario funcional: una revisión. *Magnesio (g/kg)* , 8 (9,06), 4-90.
- Sánchez-González, L.; Pastor, C.; Vargas, M.; Chiralt, A.; González-martínez, C., and Cháfer, M. (2011). Postharvest Biology and Technology Effect of hydroxypropylmethylcellulose and chitosan coatings with and without bergamot essential oil on quality and safety of cold-stored grapes. 60, 57–63.
- Sanwal, N.; Gupta, A.; Bareen, M. A.; Sharma, N., and Sahu, J. K. (2023b). Kombucha fermentation: recent trends in process dynamics, functional bioactivities, toxicity management, and potential applications. *Food Chemistry Advances*, 3, 100421.
- Saucedo-Pompa, S.; Torres-Castillo, J. A.; Castro-López, C.; Rojas, R.; Sanchez-Alejo, E. J.; Heya, M. N., and Martínez-Ávila, G. C. G. (2018b). Moringa plants: bioactive compounds and promising applications in food products. *Food Research International*, 111, 438-450.

- Shah, M. A.; Bosco, S. J. D., and Mir, S. A. (2015). Effect of Moringa oleifera leaf extract on the physicochemical properties of modified atmosphere packaged raw beef. *Food Packaging and Shelf Life*, 3, 31-38.
- Sharma, C., and Bhardwaj, N. K. (2020). Fabrication of natural-origin antibacterial nanocellulose films using bio-extracts for potential use in biomedical industry. *International Journal of Biological Macromolecules*, 145, 914-925.
- Singleton, V. L.; Orthofer, R., and Lamuela-Raventós, R. M. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. En *Methods in Enzymology* (pp. 152-178).
- Smith, J. S., and Hui, Y. H. (2004). Food processing: Principles and Applications. Wiley-Blackwell. [https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=gJ6jA7LG-bsC&oi=fnd&pg=PR5&dq=Smith,+J.+S.,+%26+Hui,+Y.+H.+\(2004\).+Food+processing:+Principles+and+Applications.+Wiley-Blackwell.&ots=AY3G16TBRI&sig=ka53Cjk6nCwxbnZ_g_qSnkqQom8#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=gJ6jA7LG-bsC&oi=fnd&pg=PR5&dq=Smith,+J.+S.,+%26+Hui,+Y.+H.+(2004).+Food+processing:+Principles+and+Applications.+Wiley-Blackwell.&ots=AY3G16TBRI&sig=ka53Cjk6nCwxbnZ_g_qSnkqQom8#v=onepage&q&f=false)
- Socaciu, M.; Fogarasi, M.; Semeniuc, C. A.; Socaci, S.; Rotar, A. M.; Mureşan, V.; Pop, O. L., and Vodnar, D. C. (2020). Formulation and characterization of antimicrobial edible films based on whey protein isolate and tarragon essential oil. *Polymers*, 12(8), 1748.
- Solano-Doblado, L. G.; Alamilla-Beltrán, L., and Jiménez-Martínez, C. (2018). Películas y recubrimientos comestibles funcionalizados. *Tip revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 21, 30.
- Maneerung, T.; Tokura, S., and Rujiravanit, R. (2008). Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing. *Carbohydrate Polymers*, 72(1), 43-51.
- Tanticharakunsiri, W.; Mangmool, S.; Wongsariya, K., and Ochaikul, D. (2020). Characteristics and upregulation of antioxidant enzymes of kitchen mint and oolong tea kombucha beverages. *Journal of Food Biochemistry*, 45(1).
- Tapias, Y. A. R.; Di Monte, M. V.; Peltzer, M. A., and Salvay, A. G. (2023). Kombucha fermentation in Yerba Mate: cellulose production, films formulation and its characterisation. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 5,

100310.

- Tuya Salas, J.; Gutiérrez Moreno, S., y Merino Rafael, F. (2021). Ensayos Preliminares Para Producción De Celulosa Por Bacterias Aisladas De Caña De Azúcar. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 87(2), 128–136.
- Vega, A.; Ampuero, N.; Díaz, L., and Lemus, R. 2005. “El *Aloe Vera (Aloe Barbadensis Miller)* Como Componente de Alimentos Funcionales. *Revista chilena de nutrición*, 32(3).
- Villarreal-Soto, S. A.; Beaufort, S.; Bouajila, J.; Souchard, J. P.; Renard, T.; Rollan, S.; and Taillandier, P. (2019). Impact of fermentation conditions on the production of bioactive compounds with anticancer, anti-inflammatory and antioxidant properties in kombucha tea extracts. In *Process Biochemistry* (Vol. 83).
- Vistín, J.; Erazo, F., and González, M. (2021). Drink based on whey, fruit and different levels of moringa extract (*Moringa oleifera*). *Polo del Conocimiento*, 99-111.
- Vohra, B. M.; Fazry, S.; Sairi, F., and Othman, B. A. (2019). Effects of medium variation and fermentation time on the antioxidant and antimicrobial properties of kombucha. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 15(2-1), 298-302.
- Wang, S.; Han, Y.; Ye, Y.; Shi, X.; Xiang, P.; Chen, D., and Li, M. (2017). Physicochemical characterization of high-quality bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter* sp. strain W1 and identification of the associated genes in bacterial cellulose production. *RSC Advances*, 7(71), 45145-45155.
- World Health Organization: WHO. (2020). Alimentación sana. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet#:~:text=Panorama%20general,enfermedades%20no%20transmisibles%20y%20trastornos>.
- Young, J.; Sisilia K.; Putu V. P. D., and . Katherine. 2020. “Efecto de La Sacarosa La Síntesis decelulosa Bacteriana Por de Kombucha Té Negro (*Camellia*).” *KnE Life Sciences*.
- Yuliana, N.; Nurainy, F.; Sari, G. W.; Sumardi, S., and Widiastuti, E. L. (2023). Total microbe, physicochemical property, and antioxidative activity during fermentation of cocoa honey into kombucha functional drink. *Applied Food Research*, 3(1),

100297.

- Zubaidah, E.; Dewantari, F. J.; Novitasari, F. R.; Srianta, I., and Blanc, P. (2018). Potential of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaerth.) voss) for the development of a beverage through fermentation with the Kombucha Consortium. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13, 198-203.
- Zubaidah, E.; Ifadah, R. A., and Afgani, C. A. (2019). Changes in chemical characteristics of kombucha from various cultivars of snake fruit during fermentation. *IOP conference series*, 230, 012098.
- Zubaidah, E.; Nisak, Y. K.; Susanti, I.; Widyaningsih, T. D.; Srianta, I., and Tewfik, I. (2021). Turmeric kombucha as effective immunomodulator in salmonella typhi-infected experimental animals. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 37, 102181.