

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**PRODUCCIÓN DE EXOPOLISACÁRIDOS MICROBIANOS DE INTERÉS
INDUSTRIAL PARA LA VALORIZACIÓN DE LA CÁSCARA DE PLÁTANO Y
SUS COMBINACIONES CON DIFERENTES RESIDUOS ORGÁNICOS**

Por

DIANA LUCINDA CASTILLO PATIÑO

**Como requisito parcial para obtener el Grado de DOCTOR EN CIENCIAS
con Orientación en Microbiología Aplicada**

Octubre, 2024

“PRODUCCIÓN DE EXOPOLISACÁRIDOS MICROBIANOS DE INTERÉS INDUSTRIAL PARA LA VALORIZACIÓN DE LA CÁSCARA DE PLÁTANO Y SUS COMBINACIONES CON DIFERENTES RESIDUOS ORGÁNICOS”

Aprobación de la Tesis:

DR. JOSÉ RUBÉN MORONES RAMÍREZ
Presidente

DRA. EVANGELINA RAMÍREZ LARA
Secretaria

DR. JULIO SILVA MENDOZA
Vocal

DRA. MÓNICA MARÍA ALCALÁ RODRÍGUEZ
Vocal

DR. ERICK HEREDIA OLEA
Vocal

DRA. MARÍA ELENA CANTÚ CÁRDENAS
Sub-Directora de Posgrado

“PRODUCCIÓN DE EXOPOLISACÁRIDOS MICROBIANOS DE INTERÉS INDUSTRIAL PARA LA VALORIZACIÓN DE LA CÁSCARA DE PLÁTANO Y SUS COMBINACIONES CON DIFERENTES RESIDUOS ORGÁNICOS”

Revisión de la Tesis:

DR. JOSÉ RUBÉN MORONES RAMÍREZ
Asesor

DRA. EVANGELINA RAMÍREZ LARA
Comité Tutorial

DR. JULIO SILVA MENDOZA
Comité Tutorial

DRA. MÓNICA MARÍA ALCALÁ RODRÍGUEZ
Comité Tutorial

DR. ERICK HEREDIA OLEA
Comité Tutorial

DRA. MARÍA ELENA CANTÚ CÁRDENAS
Sub-Directora de Posgrado

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, a Dios por la vida, las bendiciones y por permitirme conocer personas increíbles que de una u otra manera me han apoyado tanto en mi vida personal como profesional siempre.

A mi hermosa madre, mis hermanos y a mi esposo por todo el cariño y el apoyo brindado y estar conmigo siempre en las buenas y en las malas.

A la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León por la oportunidad de participar en el posgrado de microbiología aplicada, al CONAHCyT por la beca otorgada durante el desarrollo de esta investigación, al Tecnológico de Monterrey por permitirme una estancia y hacer uso de las instalaciones y equipos.

Al Dr. Rubén Morones por su excelente asesoría y acompañamiento en cada una de las etapas del desarrollo de este proyecto. También a nuestro grupo de investigación con quienes he aprendido y compartido fascinantes conocimientos y momentos.

A mi comité tutorial conformado por la Dra. Evangelina Ramírez Lara, Dra. Mónica María Alcalá Rodríguez y el Dr. Julio Silva Mendoza por sus sugerencias y recomendaciones valiosas para el enriquecimiento de este estudio.

A los Doctores Xristo Zarate Kalfopulos y Erick Heredia Olea, por su gran apoyo administrativo y experimental en la ejecución de las diferentes fases de esta investigación.

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a mi hermano Junior Fernando Peñafiel Castillo quién desde el cielo me acompaña cada instante de mi vida, en mis triunfos y fracasos tal como lo hacía aquí en la tierra. A mi madre Rosa Ana Castillo Patiño que, aunque este lejos sus oraciones y su amor tiene efecto en mí, que hacen que la sienta acá conmigo. A mis hermanos Jhon, Jacqueline, Darwin y Lizbeth Peñafiel Castillo, por el apoyo y cariño incondicional. A mi esposo Javier Alejandro Pérez Ortega, que llego a mi vida a ser el pilar que me faltaba. Y a toda mi familia y amigos que de una u otra forma están conmigo siempre.

TABLA DE CONTENIDO

TABLA DE CONTENIDO.....	1
NOMENCLATURA	10
RESUMEN	11
CAPÍTULO 1	13
1. INTRODUCCIÓN.....	13
CAPÍTULO 2	17
2. ANTECEDENTES	17
2.1. La Agroindustria en México	17
2.2. Producción de residuos agroindustriales.	18
2.3. Regulación del manejo de residuos.....	18
2.4. Economía circular de los residuos agroindustriales.	19
2.5. Aprovechamiento de los residuos agroindustriales.....	20
2.6. Aprovechamiento de la cáscara de Plátano.....	21
2.7. Aprovechamiento de la cáscara de papa.....	22
2.8. Aprovechamiento de la cáscara de naranja.....	23
2.9. Biorremediación de los residuos agroindustriales.....	23
2.10. Producción y características de los EPS.	25
2.11. Aplicaciones de los Exopolisacáridos.....	26
2.12. Aportación Científica	27
CAPÍTULO 3	28
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	28
3.1. Hipótesis	28
3.2. Objetivos	28
3.2.1. Objetivo General	28

3.2.2. Objetivos específicos	28
CAPÍTULO 4	30
4. MATERIALES Y MÉTODOS	30
4.1. Materiales y equipos.....	30
4.2. Esquema general del proyecto.	32
4.3. Producción de stocks de <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UANL-001L.	33
4.4. Extractos de las cascaras de plátano, papa y naranja.	34
4.5. Diseño experimental de los extractos PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP....	36
4.6. Caracterización proximal de los extractos.	36
4.7. Crecimiento de <i>R. mucilaginosa</i> UANL-001L en los extractos.	38
4.8. Consumo de azúcares reductores en los extractos.	38
4.9. Análisis CHNS de la biomasa de <i>R. mucilaginosa</i> UANL-001L.....	39
4.10. Extracción de carotenoides de los extractos de cascaras.	39
4.11. Producción de EPS de las cascaras de plátano, papa y naranja.	41
4.12. Caracterización morfológica de los EPS.....	42
4.13. Evaluación de grupos funcionales de los EPS (FTIR).....	42
4.14. Análisis elemental de los EPS.	43
4.15. Presencia y composición de monosacáridos en los EPS.....	43
4.16. Determinación del peso molecular de los EPS.	44
4.17. Tamaño de partícula de los EPS	44
4.18. Determinación de aminoácidos libres en los EPS.....	44
4.19. Actividad antimicrobiana de los EPS (MIC).....	45
4.20. Efecto antibiopelícula de los EPS.	47
4.21. Elaboración de películas delgadas de los EPS obtenidos.....	48
4.22. Morfología superficial de las películas de EPS, mediante AFM.	48

4.23. Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas de EPS.....	49
4.24. Solubilidad de las películas delgadas de EPS en agua y etanol.	50
4.25. Eficacia de inhibición de las películas de EPS.....	51
4.26. Análisis reológico de los EPS de las cascaras.....	51
4.27. Escalamiento del volumen de producción de los EPS YM y NA.	52
4.28. Análisis de datos.	53
4.29. Disposición de los residuos generados.....	53
CAPÍTULO 5	54
5. RESULTADOS.....	54
5.1. Producción stocks de <i>R. mucilaginoso</i> UANL-001L y extractos de las cascaras de plátano, papa y naranja.	54
5.2. Síntesis de EPS de los extractos PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP.....	55
5.3. Caracterización proximal de los extractos.	55
5.4. Crecimiento y consumo de azúcares reductores.	57
5.5. Producción y caracterización CHNS de la biomasa de <i>R. mucilaginoso</i> UANL-001L.....	60
5.6. Monosacáridos en los extractos PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP.	62
5.7. Producción de carotenoides de <i>R. mucilaginoso</i> UANL-001L.....	63
5.8. Producción de EPS de los extractos PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP.	67
5.9. Caracterización morfológica de los EPS.....	70
5.10. Grupos funcionales de los EPS.	73
5.11. Análisis elemental de los EPS.	74
5.12. Presencia y composición de monosacáridos en los EPS.....	75
5.13. Peso molecular de los EPS.	76
5.14. Tamaño de partícula de los EPS.	77
5.15. Aminoácidos libres en la estructura de los EPS.....	79

5.16. Actividad antimicrobiana de los EPS (MIC).....	79
5.17. Efecto antibiopelícula de los EPS.	83
5.18. Películas delgadas elaboradas con los EPS obtenidos.	87
5.19. Caracterización superficial (AFM) de las películas delgadas.	88
5.20. Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas de EPS.....	94
5.21. Solubilidad de las películas delgadas de EPS en agua y etanol.	95
5.22. Eficacia de inhibición microbiana ZOI de las películas de EPS.....	96
5.23. Propiedades reológicas de los EPS.....	98
5.24. Escalamiento en la producción de los EPS de YM y NA.....	100
5.24.1. Crecimiento y consumo de azúcares durante el escalado.....	100
5.24.2. Producción de EPS del medio YM y NA escalados.....	101
CAPÍTULO 6	102
6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	102
6.1. Stocks microbianos y extractos de las cascaras.	102
6.2. Síntesis de los EPS obtenidos de los extractos combinados.	103
6.3. Caracterización proximal de los extractos de las cascaras.	103
6.4. Crecimiento y consumo de azúcares de <i>R. mucilaginosa</i> UANL.....	105
6.5. Producción y CHNS de la biomasa de <i>R. mucilaginosa</i>	107
6.6. Monosacáridos presentes en los extractos combinados.	108
6.7. Producción de carotenoides totales.	108
6.8. Producción de EPS de las cascaras de plátano, papa y naranja. ...	110
6.9. Caracterización morfológica de los EPS.....	112
6.10. Grupos funcionales de los EPS (FTIR).	113
6.11. Caracterización elemental CHNS de los EPS.....	114
6.12. Composición de monosacáridos en los EPS.	115

6.13. Peso molecular de los EPS.	116
6.14. Tamaño de partícula de los EPS.	116
6.15. Presencia de aminoácidos libres en los EPS.....	117
6.16. Efecto antimicrobiano y antibiopelícula de los EPS.	117
6.17. Películas delgadas de los EPS de las cascavas de plátano, papa y naranja.	120
6.18. Morfología superficial y topográfica de los EPS (AFM).	121
6.19. Permeabilidad de las películas de EPS.	122
6.20. Solubilidad de las películas delgadas de EPS en agua y etanol.	123
6.21. Eficacia de inhibición ZOI de las películas de EPS.	124
6.22. Evaluación reológica de los EPS.	125
6.23. Crecimiento y consumo de azúcares durante en escalamiento.	126
6.1. Producción de EPS de YM y NA en escala de 200 mL y 5 L.	127
CAPÍTULO 7	128
7. CONCLUSIONES	128
CAPÍTULO 8	131
8. ANEXOS.....	131
8.1. Calendarización.....	131
CAPÍTULO 9	132
8. BIBLIOGRAFÍA.....	132

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Nomenclatura y descripción	10
Tabla 2. Materiales y consumibles utilizados.	30
Tabla 3. Lista de equipos usados para el desarrollo del proyecto.	30
Tabla 4. Cepas microbianas empleadas.	31
Tabla 5. Tratamientos para la elaboración de los extractos de las cascara de plátano, papa y naranja y el caldo YM.	34
Tabla 6. Diseño experimental de los extractos combinados para la producción de EPS.	36
Tabla 7. Producción de EPS a partir de los extractos combinados de las cascara de plátano, papa y naranja.	55
Tabla 8: Perfil de sólidos totales y contenido de nitrógeno total de los extractos PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP.	57
Tabla 9. Monosacáridos disponibles en los extractos de PT/PP, PT/NA y PT/NA/PP después de 96 h de incubación.	63
Tabla 10. Presencia de monosacáridos en los EPS	76
Tabla 11: MIC de los EPS combinados PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP a distintas variables frente a <i>E. coli</i>	80
Tabla 12. MIC de los EPS PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP y del YM frente a <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> (<i>SaR</i>).	81
Tabla 13: Solubilidad de las películas de EPS en agua y etanol.	96
Tabla 14. Cronograma de trabajo.	131

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema general del proyecto.	33
Figura 2. Producción de stocks de <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UANL-001L.....	34
Figura 3. Preparación de los extractos de las cascaras de plátano, papa y naranja.	35
Figura 4. Caracterización proximal de los extractos de las cascaras.	37
Figura 5. Crecimiento de <i>R. mucilaginosa</i> UANL-001L en los extractos.	38
Figura 6. Determinación del consumo de azúcares de los extractos.....	39
Figura 7. Extracción de carotenoides de la biomasa de los extractos.	41
Figura 8. Recuperación de EPS de los extractos de cascaras de plátano, papa y naranja.	42
Figura 9. Reacción FAN para determinar aminoácidos libres en los EPS.....	45
Figura 10. MIC de los EPS de las cascaras frente a <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	46
Figura 11. Efecto antibiopelícula de los EPS frente a <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	47
Figura 12. Evaluación de los EPS como películas y recubrimientos.	49
Figura 13. Sistema para medir la WVP de las películas de los EPS.	50
Figura 14. Escalamiento del volumen de producción de los EPS YM y NA.....	53
Figura 15. Stock y extractos de cascaras de plátano, papa y naranja.....	54
Figura 16. Crecimiento y consumo de azúcares de <i>R. mucilaginosa</i>	59
Figura 17. Evolución celular de <i>R. mucilaginosa</i> UANL-001L en los extractos..	60
Figura 18. Producción de biomasa de <i>R. mucilaginosa</i> UANL-001L (g/L).....	61
Figura 19. Análisis CHNS de la biomasa de los extractos combinados.....	62
Figura 20: Producción de carotenoides de <i>R. mucilaginosa</i> en mg/L y µg/g.	64
Figura 21: Espectros de los carotenoides de los extractos de residuos	65

Figura 22. Microscopías SEM de la biomasa de <i>R. mucilaginosa</i>	67
Figura 23: Producción de EPS combinados de PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP.. ...	68
Figura 24: Rendimiento de los EPS de PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP.....	69
Figura 25: Producción de EPS de las cascaras de plátano, papa, naranja y del medio YM.	69
Figura 26. Producción de EPS de las cascaras individuales y combinadas	70
Figura 27. Microscopías SEM de la morfología superficial de los EPS	72
Figura 28. Espectros FTIR de los grupos funcionales presentes en los EPS.	74
Figura 29. Caracterización CHNS de los EPS de las cascaras.....	75
Figura 30. Cromatogramas del peso molecular de los EPS.	77
Figura 31. Tamaño de partículas de los EPS.....	78
Figura 32. Aminoácidos libres en los EPS	79
Figura 33. MIC de los EPS de YM y de las cascaras frente a <i>E. coli</i>	82
Figura 34. MIC de los EPS de YM y de las cascaras frente a <i>S. aureus</i>	83
Figura 35. Efecto antibiopelícula de los EPS frente a <i>E. coli</i>	85
Figura 36. Efecto antibiopelícula de los EPS frente a <i>S. aureus (SaR)</i>	86
Figura 37. Películas delgadas elaboradas con los EPS de las cascaras.....	87
Figura 38. Morfología y topografía (AFM) de la película del EPS de PT.	89
Figura 39. Morfología y topografía (AFM) de la película del EPS de NA.....	90
Figura 40. Morfología y topografía (AFM) de la película del EPS del PP.	91
Figura 41. Morfología y topografía (AFM) de la película del EPS de PT/NA.	92
Figura 42. Morfología y topografía (AFM) de la película del EPS de PT/PP.....	93
Figura 43. Morfología y topografía (AFM) de la película del EPS PT/NA/PP.....	94
Figura 44. Tendencias de WVP de las películas de los EPS	95
Figure 45. Solubilidad de las películas de EPS en agua y etanol.....	96

Figura 46. Zona de inhibición (ZOI) de las películas de EPS contra <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i>	97
Figura 47. Resultados ZOI de las películas contra <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i>	97
Figura 48. Estrés de corte de los EPS de las cascaras de plátano, papa y naranja y del medio YM.....	99
Figura 49. Viscosidad de los EPS de las cascaras de plátano, papa y naranja y del YM.	99
Figura 50. Crecimiento y consumo de azúcares reductores de <i>R. mucilaginosa</i> UANL-001L durante el escalado	101
Figura 51. Escalamiento (200 mL a 5 L) en la producción de EPS de los medios YM y NA.	101

NOMENCLATURA

Tabla 1. Nomenclatura y descripción

Nomenclatura	Descripción
%	Porcentaje
µL	Microlitro
µm	Micrómetro
AFM	Microscopía de fuerza atómica
Cm	Centímetro
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNS	Ácido 3,5-Dinitrosalicílico
DO	Densidad óptica
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EPS	Exopolisacárido/s
FTIR	Infrarrojo con transferencia de Fourier
G	Gramo
g/L	Gramo por litro
H	Hora
L	Litro
LB	Luria-Bertani
Mg	Miligramo
mg/L	Miligramo por litro
mg/mL	Miligramo por mililitro
Min	Minuto
mL	Mililitro
Mm	Milímetro
NA	Extracto de cáscara de naranja
Nm	Nanómetro
°C	Grados Celsius
pH	Potencial de hidrógeno
PP	Extracto de cáscara de papa
Ppm	Partes por millón
PT	Extracto de cáscara de plátano
PT/NA	Extracto de cáscaras de plátano y naranja
PT/NA/PP	Extracto de cáscaras de plátano, naranja y papa
PT/PP	Extracto de cáscaras de plátano y papa
Rpm	Revoluciones por minuto
<i>R. mucilaginosa</i> UANL-001L	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UANL-001L
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SEM	Microscopía electrónica de barrido
YM	Extracto de Levadura y Malta

RESUMEN

La transformación de los residuos agroindustriales en biopolímeros ha emergido como una estrategia prometedora para la obtención de materiales biodegradables y la fomentación de actividades eco-amigables en la industria. Entre los biopolímeros resultantes destacan los exopolisacáridos (EPS) que poseen diversas aplicaciones en industrias como la alimentaria, farmacéutica y de recubrimientos biodegradables, reforzando el potencial de estos residuos para la creación de productos funcionales y sostenibles. Por ello, el objetivo de este estudio fue obtener EPS microbianos de interés industrial para la valorización de la cáscara de plátano y sus combinaciones con diferentes residuos orgánicos. Para desarrollar el proyecto, se utilizaron cascaras de plátano, papa y naranja recolectados de las industrias hortofrutícolas de Monterrey. Se prepararon seis extractos de las cascaras individuales (PT, PP y NA) y combinadas (PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP) a una concentración de 100 g/L. Los extractos se inocularon con 1 % de la cepa *R. mucilaginosa* UANL-001L, para la síntesis de EPS. Se determinó la morfología, grupos funcionales, monosacáridos, peso molecular, tamaño de partícula, películas delgadas, topografía, MIC, efecto antibiopelícula y propiedades reológicas de los EPS recolectados. También se realizó un escalamiento exploratorio (5 L) de los medios YM y NA. Los resultados obtenidos revelan que seis de los 7 extractos incluido el YM como control, sintetizaron EPS hasta 469 mg/L, mientras que, el extracto NA superó la producción del resto de los EPS con un total de 860 mg/L. Los EPS de las cascaras de plátano y naranja mostraron morfologías más homogéneas y lisas con partículas más pequeñas y los EPS derivados de la cáscara de papa tuvieron superficies irregulares y fragmentadas. Los EPS PT, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP adicional a los grupos funcionales característicos de los polímeros, mostraron un estiramiento entre 1000-500 cm^{-1} propio del óxido de silicio (Si-O). Además, la fucosa y la galactosa fueron los monosacáridos detectados en todos los EPS y con similares concentraciones entre 1.31 y 1.48 mg/L para fucosa y 0.79 y 1.43 para galactosa. Todos los EPS registraron pesos moleculares altos entre 75 y 80 kDa. Mientras

que, el EPS de PT/PP tuvo el mayor tamaño de partícula (665 nm) y el menor valor reportó el EPS de NA con 175 nm, indicando una mejor homogenización de la muestra. Los EPS de las cascaras de plátano y naranja solas y combinadas registraron mayor efecto antimicrobiano y antibiopelícula frente a las bacterias *E. coli* y *S. aureus*, consiguiendo MIC desde la dilución de 0.16 mg/L con su combinado PT/NA. Por otro lado, los distintos EPS de las cascaras pueden usarse en la elaboración de películas delgadas y las mejores características físicas se observó en la película del EPS NA, que fue totalmente transparente y con aspecto liso y flexible. Sin embargo, al analizar su topografía superficial fue la que presentó la mayor rugosidad con 7.03 nm, y la película de menor rugosidad y espesor fue la de PT/NA (0.21 y 6.5 nm respectivamente), con una superficie lisa y sin relieves. En cuanto a las propiedades reológicas de los distintos EPS contra los hidrocoloides comerciales, destacó el EPS NA registrando los valores de estrés de corte y viscosidad más cercanos (0.43 Pa y 0.06 Pa-s) a la xantana (2.60 Pa y 0.32 Pa-s) y a la arábica (0.55 Pa y 0.22 Pa-s), valor de estrés cercano y mayor viscosidad a la goma guar (0.54 Pa y 0.04 Pa-s) y superando en los dos parámetros a la pectina (0.18 Pa y 0.02 Pa-s). Por último, la producción del EPS de YM con el proceso de escalamiento (5 L) aumentó 208 mg/L comparado a la producción en 200 mL, mientras que, del EPS NA disminuyó en 129 mg/mL con el escalamiento. En conclusión, la producción de EPS a partir de las cascaras de plátano, papa y naranja utilizando *R. mucilaginoso* UANL-001L demostró ser una estrategia viable para valorizar los residuos agroindustriales, produciendo biopolímeros con características funcionales adecuadas para aplicaciones industriales, promoviendo un modelo de economía circular sostenible.

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

La agroindustria es una fuerza silenciosa que influye significativamente en el mundo. Además de destacar su potencial en la generación y transformación de alimentos y otros productos del campo, ejerce una imponente contribución económica (Castrillón, 2023). La agroindustria es un motor esencial para la sustentabilidad, promoviendo de manera integral el desarrollo económico, social, tecnológico y ambiental en países tanto desarrollados como en vías de desarrollo (Vargas-Corredor & Pérez-Pérez, 2018). Aportando excelentes oportunidades y ventajas en los procesos de industrialización global y de crecimiento económico, fortaleciendo el desempeño de las exportaciones y la seguridad alimentaria en términos de disponibilidad y accesibilidad a alimentos inocuos y de calidad adecuada para el consumo (FAO *et al.*, 2017; Por *et al.*, 2013). Al igual que en otros países la agroindustria en México representa una oportunidad crucial para impulsar el desarrollo económico del país, alineándose con los procesos globales de industrialización y fortaleciendo su competitividad en el mercado internacional (Mejías *et al.*, 2016; SIAP & SADER, 2023). La agroindustria mexicana tuvo una significativa participación del 34 % en el Producto Interno Bruto (PIB) nacional hasta 2018, destacándose como un pilar fundamental de la economía y fue el único sector que experimentó un crecimiento del 5 % hasta 2022, a pesar del impacto significativo de la pandemia de COVID-19 (FAO, 2022). Además, de acuerdo con los reportes anuales del SADER y SAIP (2024) hasta el 30 de junio del 2024, por décimo año consecutivo la Balanza Comercial Agropecuaria y Agroindustrial mexicana posee superávit, siendo el superávit hasta junio del 2024 de 5757 millones de dólares (MDD) y que el mayor superávit de los últimos 30 años (7234 MDD) se reportó en el 2020.

Sin embargo, la evolución agroindustrial, aunque tiene innumerables beneficios económicos, también ha dado lugar a un aumento desmedido en la producción de residuos orgánicos, que se convierten en una potencial amenaza medioambiental si no se gestionan adecuadamente (SEMARNAT, 2019). Ya que al terminar en basureros o incinerados este tipo de residuos generan compuestos nocivos principalmente para la flora y fauna de estos lugares, desequilibrando el medio ambiente, la economía y salud humana (El Barnossi & Housseini, 2023). En México, la producción de residuos orgánicos alcanza alrededor de 76 millones de toneladas anuales, y se prevé un incremento de entre el 30 % y el 40 % para el año 2030 (González-Sánchez et al., 2015). De este total, el 46 % corresponde a desechos orgánicos generados por los sectores agrícola, alimentario y doméstico (SEMARNAT, 2020). Esta alarmante situación ha suscitado un creciente interés científico, industrial y social en el desarrollo de leyes y de líneas de investigación centradas en la regulación de la producción y el aprovechamiento eficiente de los residuos agroindustriales (Narváez, 2018). En México, la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR) es clave para la protección ambiental en México, ya que establece las normativas para el manejo adecuado de residuos peligrosos, sólidos urbanos y de manejo especial. Su enfoque radica en promover el desarrollo sustentable, garantizar un entorno saludable para la población y reducir el impacto ambiental a través de la prevención, valorización y gestión integral de los residuos. Adicionalmente, contribuye a la responsabilidad compartida entre autoridades, empresas y ciudadanos en la gestión de residuos (LGPIR, 2015). Por otro lado, debido a lo enorme volumen de desperdicio y el alto valor agregado de los residuos surge la economía circular como una respuesta al modelo tradicional de producción y consumo "lineal" (tomar, usar, desechar), buscando minimizar residuos y aprovechar al máximo los recursos, contribuyendo de esta manera a la sostenibilidad, la reducción de residuos, el ahorro de energía y la generación de nuevas oportunidades económicas al transformar los residuos en recursos valiosos, impulsando un cambio hacia un desarrollo más responsable y eficiente (Cerdá, 2016; Unión Europea- EU, 2023). Del mismo modo, debido a que los

diversos residuos aún poseen importantes biomateriales que pueden ser transformados en productos de alto valor, como biocombustibles, bioenergía, biogás, enzimas, compostaje, exopolisacáridos (EPS), vitaminas, entre otros (Maqbool et al., 2023; Mohamed et al., 2021). En los últimos años ha demandado la atención científica-social para la búsqueda, la implantación o adaptación de técnicas y procesos estratégicos para el aprovechamiento adecuado de residuos. Entre las diferentes estrategias investigadas, sobresalen las técnicas biotecnológicas como la biorremediación que utiliza microorganismos (bacterias, hongos y algas), plantas o para eliminar o neutralizar contaminantes del medio ambiente, ofreciendo una alternativa ecológica y económica a los métodos químicos o físicos tradicionales (Rodríguez-Gonzales et al., 2022). En México los residuos agroindustriales mayormente aprovechados con la intervención microbiana son las cascarras y bagazos de las frutas y vegetales como: plátano, manzana, naranja, piña, papaya, limón, maíz, arroz, papa, tomate, café, entre otros (Sánchez-Silva et al., 2020). Así también, entre los microorganismos utilizados para biorremediación destaca la levadura *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L, una cepa fúngica aislada del noreste de México y posee una alta capacidad de síntesis de EPS y carotenoides (Rosas-Mejía et al., 2024; Torres-Alvarez et al., 2022). Los EPS son biopolímeros de carbohidratos de cadena larga y alta masa molecular secretados por microorganismos y microalgas (Garza-Cervantes, 2019). Gracias a sus características de biocompatibilidad, biodegradabilidad y no toxicidad de los EPS, el interés por su síntesis y extracción ha incrementado en las últimas décadas principalmente en el ámbito científico-industrial (Sardari et al., 2017). Las cualidades presentes en los EPS permiten que estos sean ampliamente utilizados en diferentes sectores industriales como gelificantes, estabilizadores texturizadores, espesantes, inmunomoduladores, elaboración de herbicidas e insecticidas, nutracéuticos, fármacos, anticoagulantes, antiinflamatorios, antimicrobianos, alimentos funcionales, elaboración de recubrimientos y películas delgadas, entre otros (Castillo-Patiño et al., 2024; Garza-Cervantes et al., 2019; Hussain et al., 2017).

Con base en ello, se llevó a cabo la presente investigación que permitió el aprovechamiento de los residuos agroindustriales como la cáscara de plátano, y sus combinaciones con diferentes residuos orgánicos (cáscaras de papa y naranja) como sustrato para mejorar la producción y caracterización de los EPS sintetizados por *R. mucilaginoso* UANL-001L y evaluar sus posibles aplicaciones industriales a fin de eficientizar los procesos industriales y reducir el impacto ambiental. Prevalciendo el enfoque en el desarrollo sustentable que conduce a la creación de un ecosistema de economía circular de los residuos agroindustriales a fin de lograr un balance y sinergia entre los sectores: agroindustrial, socioeconómico y medioambiental.

CAPÍTULO 2

2. ANTECEDENTES

2.1. La Agroindustria en México

En la actualidad, la agroindustria es fundamental para satisfacer las crecientes demandas de una sociedad de consumo cada vez más exigente, desempeñando un papel clave en el mantenimiento del estilo de vida global. Entre las diversas definiciones de la agroindustria, sobresale la establecida por Saval (2012) que la describe como una actividad económica que integra los procesos productivos agrícolas e industriales para producir alimentos terminados o materias primas semielaboradas, destinadas a su comercialización en el mercado. La agroindustria es fundamental no solo para garantizar el abastecimiento de productos, sino también para impulsar el desarrollo económico, social, tecnológico y ambiental tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, ya que tiene la capacidad para integrar avances tecnológicos, generar empleo y optimizar el uso de los recursos naturales, promoviendo prácticas sostenibles que mejoran la calidad de vida (FAO, 2017; Vargas Corredor & Pérez Pérez, 2018).

En México la agroindustria ha sido un motor clave en la economía, aportando el 34 % del Producto Interno Bruto (PIB) nacional hasta 2018 y a pesar de los desafíos provocados por la pandemia de COVID-19, fue el único sector que se mantuvo en crecimiento demostrando su capacidad de resiliencia (FAO, 2022). Esto ha permitido en los últimos años México incrementar su participación en el mercado mundial, llegando a más de 150 países con sus productos agroindustriales como aguacate, chile, limón, cerveza, jitomate, banano, cítricos, fresas, tequila y mezcal (Sánchez-Silva et al., 2020). Así como también, que la

comercialización agroalimentaria mexicana mantenga un superávit por diez años consecutivos, consiguiendo su tercer mejor superávit de la última década en el primer semestre del 2024 con 5757 MDD, y un incremento del 11.15 % respecto al superávit del 2023 (SADER & SAIP, 2024).

2.2. Producción de residuos agroindustriales.

El desarrollo de cualquier actividad agroindustrial junto a su contribución económica arrastra un enorme incremento en la generación de residuos orgánicos e inorgánicos, que en su mayoría no son tratados adecuadamente y terminan en botaderos o en cenizas, impactando negativamente a la salud humana y medio ambiental (El Barnossi & Housseini, 2023; SEMARNAT, 2019). En México se estima que más del 46 % del total de residuos generados anualmente pertenecen a los desechos orgánicos derivados del sector agrícola, alimentario y doméstico, lo que resalta la necesidad urgente de implementar leyes de gestión de residuos y soluciones sostenibles para mitigar el impacto ambiental de esta situación (SEMARNAT, 2020).

2.3. Regulación del manejo de residuos.

Con el fin de proteger la salud humana y el medio ambiente de los efectos negativos resultantes del manejo erróneo de los distintos residuos, surgieron diversos convenios y leyes globales y nacionales para regular su producción, manejo y aprovechamiento. En México para hacer frente la problemática de los residuos la Secretaría General de Servicios Parlamentarios de México publicó en el Diario Oficial la Federación en el año 2003 responsable la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR), que establece el marco normativo para todo el territorio nacional mexicano para la correcta gestión y manejo de los residuos, con el objetivo de garantizar el derecho de toda persona al medio ambiente sano y propiciar el desarrollo sustentable a través de la prevención de la generación, la valorización y la gestión integral de los residuos peligrosos, sólidos urbanos y de manejo especial (LGPIR, 2015). La LGPIR clasifica los residuos en cuatro tipos: 1) Sólidos urbanos (RSU) que son

generados por actividades domésticas y comerciales (restos de alimentos, papel y empaques); 2) Residuos de manejo especial (RME) como papel y cartón, grasas, cáscaras y bagazos de frutas y verduras; 3) Residuos peligrosos como productos químicos metálicos, corrosivos, tóxicas, inflamables e infecciosas; 4) Residuos biológico-infecciosos (RPBI), provenientes de hospitales y laboratorios (LGPIR, 2015).

Es importante resaltar que los residuos de manejo especial son una categoría fundamental en la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR), ya que su adecuada gestión es esencial para reducir su impacto ambiental y en la salud pública. Por esta razón, su manejo debe estar regulado por planes específicos que fomenten la reducción, reutilización, reciclaje y valorización de estos residuos, tal como se establece en los Artículos 28 al 31, que detallan las responsabilidades de los generadores para la presentación y ejecución de dichos planes. Asimismo, la valorización de estos residuos busca convertirlos en insumos para nuevos procesos productivos o energéticos, impulsando así una economía circular.

2.4. Economía circular de los residuos agroindustriales.

En respuesta a las malas prácticas e ineficiente manejo de los residuos interviene la economía circular que es un modelo económico diseñado para redefinir la producción y el consumo, enfocándose en prolongar la vida útil de los productos, reducir el desperdicio y minimizar el uso de recursos naturales (EU, 2023). Aunque fue formalmente establecida en 1976, su implementación toma fuerza en la última década, debido a su capacidad para disminuir el impacto ambiental, fomentar el desarrollo sostenible y generar beneficios económicos a largo plazo, como la reducción de costos operativos y la creación de nuevos empleos en sectores verdes (Cerdá, 2016). En la actualidad, el reconocimiento de la economía circular en la gestión de residuos está en aumento a nivel mundial, ya que cada vez más países implementan políticas que promueven la

reducción de residuos y la reutilización de materiales, transformando así la gestión de recursos (EU, 2023).

De acuerdo con la (Organización de las Naciones Unidas-ONU, 2021) la transición hacia una economía circular no solo busca mitigar el impacto ambiental de los desechos, sino que también podría generar hasta 4.5 millones de empleos en el sector de residuos y reciclaje para 2030. En México, la economía circular está en constante evolución con el objetivo de transformar los procesos productivos y reducir la huella ambiental, promoviendo la reutilización y el reciclaje a lo largo de las cadenas productivas y promover una creciente conciencia sobre la sostenibilidad y la gestión de residuos (SEMARNAT, 2023).

2.5. Aprovechamiento de los residuos agroindustriales.

Los residuos agroindustriales son subproductos sólidos o líquidos generados durante la producción o industrialización de productos primarios, que ya no tienen utilidad en el proceso original. Sin embargo, su correcta valorización puede transformarlos en recursos valiosos para la obtención de nuevos productos con valor agregado, contribuyendo así a fines comerciales, económicos y sociales (Saval, 2012). Es por ello, que actualmente, las líneas de investigación se centran en desarrollar alternativas para la valorización de estos subproductos, lo que no solo ayuda a reducir la cantidad de desechos generados, sino que también promueve la economía circular (Narváez, 2018). Investigaciones previas realizados por Andrade y Ayaviri (2017) indican que una gran parte de los residuos agroindustriales se utilizan como materia prima en procesos termoquímicos y bioquímicos, dando lugar a la producción de biocombustibles como el bioetanol, el biodiésel y el biogás, de esta manera convirtiendo el problema ambiental en una oportunidad para generar energía renovable, apoyando el desarrollo sostenible y la eficiencia en el uso de recursos.

De igual manera, la producción de EPS, carotenoides y ácidos grasos de alto valor comercial representa una de las maneras más efectivas de aprovechar los residuos agroindustriales, especialmente las cáscaras de plátano, papa y naranja según investigaciones realizadas en los laboratorios de la Universidad Autónoma de Nuevo León (Castillo-Patiño et al., 2024; Torres-Álvarez et al., 2022). Además, Vargas-Corredor y Pérez-Pérez (2018) destacan que una alternativa común para el aprovechamiento de estos residuos es la producción de bioles y el compostaje. Aparte de estas prácticas, hay diversas alternativas en fase de investigación que buscan maximizar el uso de los residuos agroindustriales. Entre ellas se encuentran la producción de metabolitos y enzimas aplicables en la industria (Sadh et al., 2018). Así como la síntesis de compuestos bioactivos con funciones nutraceuticas y alto valor agregado, la obtención de antibióticos y colorantes (Beltrán-Ramírez et al., 2019). También se están explorando la producción de hongos comestibles, ácidos orgánicos, carotenoides y pigmentos microbianos, lo que abre nuevas oportunidades para la valorización de estos subproductos y desarrollos de mercados (Cortez-Lopes & Ligabue-Braun, 2021).

2.6. Aprovechamiento de la cáscara de Plátano.

El plátano es una de las frutas más importantes de la agricultura mexicana y mundial, después de la uva, los cítricos y la manzana (SADER, 2021). En el año 2020 la producción de plátano en México aumentó 3 %, alcanzando 2 millones 465 mil toneladas y una participación de 10 % en la producción nacional de frutos (SADER, 2020). Además, se considera que el plátano es la fruta de mayor consumo en el territorio mexicano debido a su disponibilidad, bajo costo, sabor agradable y alto contenido nutricional (Moncayo-Luján et al., 2018). Sin embargo, el consumo de plátano genera cantidades considerables de residuos primordialmente su cáscara que representa entre 35 % y 40 % del fruto y podría ser aprovechada para la elaboración de productos significativos gracias a su valor nutricional (Melo-Sabogal et al., 2015).

Las valiosas propiedades de la cáscara de plátano han impulsado la exploración de diversas alternativas para su aprovechamiento, como la producción de bioetanol (Romero-Bonilla et al., 2029). Además, se han investigado la extracción de compuestos bioactivos y polisacáridos, como la pectina (Mada et al., 2022). Así como la generación de enzimas de interés industrial, tales como alfa-amilasas, xilanasas y pectinasas (Mahwish et al., 2020; Moiedi-Sunira & Sumathy, 2018) También se han desarrollado alimentos funcionales ricos en fibra (Acosta-Coello et al., 2021), y se han logrado avances en la síntesis de compuestos probióticos y fenólicos, la producción de biopolímeros, biopelículas y nanofibras de celulosa, EPS, carotenoides, entre otros (Tibolla et al., 2017; Torres-Álvarez et al., 2022).

2.7. Aprovechamiento de la cáscara de papa.

La papa constituye el cuarto cultivo de mayor consumo en el mundo, mientras que en México ocupa el quinto lugar después del maíz, trigo, arroz y frijol (Magaña, 2020). El consumo anual de papa en México es de 1 millón de toneladas aproximadamente (López-Silva et al., 2019). La cáscara de papa comprende el 2 % del producto total, convirtiéndose en un desperdicio para la industria y un riesgo para el ambiente (Ospina, 2012). Sin embargo, por su alto contenido de compuestos fenólicos y nutraceuticos en la cáscara de papa, surgen diversos estudios en busca de alternativas para el aprovechamiento de este residuo, entre estos la producción de sustancias bioactivas, films biopoliméricos y bioplásticos (Enrique & Zambrano, 2021).

La cáscara de papa también puede ser utilizada para la producción de biocombustibles, biofertilizantes, antioxidantes, aditivos alimentarios y enzimas (Ahsan-Javed et al., 2019). Extracción de ácidos lácticos, ácidos fenólicos, alcaloides y esteroides de interés para la industria farmacéutica (DiWu, 2016). Elaboración de conservantes alimenticios, alimentos dietéticos y alimentos balanceados para los animales (Ababaw, 2020).

2.8. Aprovechamiento de la cáscara de naranja.

La producción y consumo global de frutos cítricos se incrementa debido a sus propiedades benéficas. Los cultivos cítricos aportan el 3 % del PIB nacional mexicano, ubicando a México como el segundo exportador de limón y el quinto de exportador de naranja a nivel mundial (Goycoolea, 2021; SAGARPA, 2016). Además, se estima que en México más del 90 % de la producción de cítricos es consumido en el territorio nacional en fresco o industrializado y que puede perderse hasta un 50 % del fruto como materia residual (Narváez, 2018). La cáscara constituye la mayor parte de los residuos cítricos y es rica en aceites esenciales, azúcares y pigmentos, lo cual le hace atractiva a su aprovechamiento para la obtención de nuevos productos como la pectina (Moncayo-Luján et al., 2018).

La cáscara de los cítricos especialmente la naranja está siendo sujeto de estudio para la obtención de otros compuestos como fructuosa y dextrano (Saval, 2012). Materia prima de las biorrefinerías para generar biocarburantes como el bioetanol, obtención de biopelículas para la confección de vajillas biodegradables (Gallo-Castro et al., 2021). Producción de aditivos alimentarios, encapsulantes, nanopartículas, prebióticos, polifenoles, aceites esenciales, carotenoides, fibra dietética, embalajes, EPS y películas delgadas (Carota et al., 2020; Castillo-Patiño et al., 2024; Santos et al., 2015; Wang et al., 2019). Compostaje, bioles y biofertilizantes, formulaciones farmacéuticas, nutracéuticas y cosméticos, entre otros (Khan et al., 2021).

2.9. Biorremediación de los residuos agroindustriales.

La agricultura y la agroindustria moderna enfrentan nuevos retos, integrando enfoques ecológicos y moleculares, para lograr mayor eficiencia en los procesos de producción y reducir al mínimo el impacto ambiental (Tarazona, 2021). Esto ha impulsado al estudio e implementación de técnicas

biotecnológicas usando distintos microorganismos benéficos y sus hábitats de colonización (Arias et al., 2010). Una de ellas es la biorremediación que es una estrategia ambiental clave que utiliza organismos vivos, como bacterias, hongos y plantas, para mitigar o eliminar contaminantes del medio ambiente, especialmente en suelos y aguas afectadas por los distintos residuos y desechos industriales (Rodríguez-Gonzales et al., 2022). Así también, la biorremediación de residuos agroindustriales tiene múltiples beneficios ambientales y económicos, ya que permite la reutilización de recursos que de otro modo serían desechados, reduce la necesidad de tratamientos químicos costosos y minimiza el impacto ambiental de la industria agroalimentaria (Garzón et al., 2017).

Los microorganismos intervienen de diversas maneras en el aprovechamiento de los residuos, como la fermentación alcohólica y digestión anaeróbica que son las rutas principales para la obtención de biocombustibles, biofertilizantes y biomasas (Rojas-González et al., 2019). Por su parte, Camacho et al (2014) señalan que los hongos y actinomicetos son los microorganismos que más participan en el proceso de degradación y aprovechamiento de los residuos orgánicos. Así también, Saval (2012) menciona que los principales microorganismos productores de lipasas extracelulares a partir de residuos son: la *Candida antarctica*, *Rhizopus oryzae* y *Mucor meihei*.

El género de *Rhodotorula* son microorganismos muy utilizados para el aprovechamiento de los residuos, gracias a su fácil crecimiento y buena capacidad de degradación de desechos orgánicos (A. Ramos et al., 2012). Las cepas de *Rhodotorula mucilaginosa* son mayormente aplicadas para la síntesis de pigmentos y compuestos bioactivos naturales a partir de residuos orgánicos (Ghilardi et al., 2020). Estas levaduras también tienen la capacidad de producir lípidos y carotenoides de las cáscaras de cebolla, papa y frijol mungo, vainas de guisante y bagazo de sisal (Da Silva et al., 2020). Y la obtención de lípidos microbianos para la síntesis de biodiesel a partir del salvado de trigo usando *Rhodotorula mucilaginosa* Y-MG1 (Ayadi et al., 2019).

Dentro del género de *Rhodotorula* destaca la cepa de *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L, gracias a su alta eficiencia para sintetizar compuestos bioactivos como EPS, carotenoides y ácidos grasos a partir de diversas fuentes de nutrientes (Torres-Álvarez et al., 2022). Esta levadura fue aislada del Río Pesquería al noreste de México y se caracteriza por su coloración rosa-anaranjada y sus condiciones óptimas: temperatura 28 °C, pH 5 y el tiempo de crecimiento máximo alcanzado posterior a las 96 h de ser inoculada en el medio de cultivo (Garza et al., 2016). Además, diversos estudios realizados por el grupo de investigación “Nano Biotechnology Research Group” demuestran que la cepa de *R. mucilaginosa* UANL-001L, posee gran capacidad para la síntesis de compuestos secundarios como carotenos, ácidos grasos y EPS con efecto antimicrobiano y antibiopelícula, que además la producción de estos compuestos se incrementa una vez que la cepa entra a la fase estacionaria, por lo que la recolección de EPS y carotenos es recomendable realizar en un lapso de 24 a 48 h después del inicio de la fase estacionaria (Vásquez-Rodríguez et al., 2018).

2.10. Producción y características de los EPS.

Los EPS están formados por residuos de monosacáridos de azúcar y heteropolisacáridos muy ramificados como las pentosas y hexosas (Alvarado-Martínez, 2015). Por su parte, (Pham et al., 2000) alegan que la producción de EPS se da durante la fase exponencial de los microorganismos y alcanza su máximo nivel en la fase de declive temprano. Además, (Sardari et al., 2017) aseguran que la producción de EPS en las últimas décadas ha ganado un interés relevante en ámbito científico e industrial, debido a sus propiedades biodegradables y eco-amigables.

Existen varios grupos microbianos principalmente las bacterias acidolácticas, bifidobacterias y levaduras que producen una amplia gama de EPS durante la fermentación (Prete et al., 2021). Estudios como el de (Donot et al., 2012) estiman que los microorganismos producen EPS como una capa protectora para soportar el estrés resultante del proceso de fermentación como

pH, temperatura, ósmosis, entre otros. Los EPS microbianos poseen estructuras químicas variadas y complejas que influyen directamente en la biología y características funcionales (Hussain et al., 2017). Los EPS pueden dividirse en homopolisacáridos si consta de un solo tipo de monosacárido y heteropolisacáridos si posee 2 o más tipos de monosacáridos en su composición (Jur et al., 2022). La mayoría de las cepas microbianas producen heteropolisacáridos sintetizados de forma intracelular, pero también hay cepas que generan homopolisacáridos a través de enzimas extracelulares (Torino MI & Font de Valdez G, 2015).

Debido a sus propiedades emulgentes y versátiles los EPS comprenden una alternativa a los polímeros químicos provenientes de las plantas y algas (Fuentes et al., 2013). Además, (Hussain et al., 2017) señalan que los EPS exhiben capacidades anti-VIH, antitumoral, estabilizantes, biodegradabilidad y propiedades inmunomoduladoras. Los EPS poseen un potencial para brindar estabilidad física y microestructural a fin de mejorar la distribución de las proteínas y la viscosidad de los productos (Swati et al., 2021). Los EPS también tienen propiedades tecnofuncionales para formar películas, incremento de la vida útil y una enorme participación en las droguerías, diagnóstico clínico, fármacos recombinantes, administración de genes, entre otros (Moradi et al., 2021). Adicionalmente, Torres-Alvarez et al (2022) mediante sus investigaciones han conseguido identificar, purificar y caracterizar los EPS sintetizados por *R. mucilaginosa* UANL-001L, los cuales tienen alto potencial industrial y comercial, debido a sus propiedades antimicrobianas y antibiopelículas.

2.11. Aplicaciones de los Exopolisacáridos.

Los EPS son ampliamente usados en las industrias de alimentos, médica y farmacéutica como gelificantes, estabilizadores texturizadores, espesantes, inmunomoduladores, antiinflamatorios y antioxidantes. (W. Li et al., 2014). Son utilizados también en la elaboración de herbicidas, insecticidas, nutracéuticos, fármacos, anticoagulantes y alimentos funcionales (Hussain et al., 2017). Los

EPS tienen relevantes aplicaciones funcionales y tecnológicas en la industria de productos lácteos para mejorar la calidad y las propiedades reológicas, sensoriales y funcionales (Swati et al., 2021). La aplicación de EPS en la industria de panificación para la generación de productos libres de gluten presenta un alto potencial (Lynch et al., 2018). Además, son empleados para la producción de envases comestibles y biodegradables, como agentes bioactivos de probióticos, aditivos artificiales, antioxidantes, antimicrobianos, entre otros (Moradi et al., 2021).

2.12. Aportación Científica

Los resultados de esta investigación permitirán evaluar la capacidad de *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L para sintetizar EPS microbianos de interés industrial, a partir de los extractos obtenidos de la cáscara de plátano y sus combinaciones con diferentes residuos orgánicos. A fin de determinar la viabilidad del uso de la cáscara de plátano y sus combinaciones como sustituto a los medios sintéticos comerciales.

CAPÍTULO 3

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. Hipótesis

La cáscara de plátano y sus combinaciones con diferentes residuos orgánicos como sustrato podrán ser utilizadas como fuente de carbono y nutrientes en la producción de EPS microbianos con aplicaciones industriales.

3.2. Objetivos

3.2.1. Objetivo General

Obtener EPS microbianos de interés industrial, para la valorización de la cáscara de plátano y sus combinaciones con diferentes residuos orgánicos.

3.2.2. Objetivos específicos

- a. Seleccionar y producir stocks de la cepa fúngica *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L para la producción de EPS.
- b. Establecer las condiciones óptimas para el crecimiento de *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L en el extracto de la cáscara de plátano y sus combinaciones.
- c. Determinar las condiciones óptimas para la extracción de EPS utilizando la cáscara de plátano y sus combinaciones como fuente de carbono y nutrientes.
- d. Realizar análisis proximales (pH, humedad, sólidos totales, sólidos solubles, contenido de nitrógeno y cenizas) de los extractos.

- e.** Caracterizar la composición fisicoquímica de los EPS microbianos de interés industrial resultantes.
- f.** Valorar las propiedades físicas de los EPS obtenidos para identificar las aplicaciones industriales y fortalecer los aspectos de economía circular de la cáscara de plátano.
- g.** Evaluar el impacto sobre la obtención del EPS microbiano en el escalamiento a volúmenes más grandes de producción.

CAPÍTULO 4

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales y equipos

Los materiales y equipos empleados para el desarrollo de esta investigación se detallan a continuación:

Tabla 2. Materiales y consumibles utilizados.

Material	Presentación	Marca
Micropipeta	2-20, 10-100, 20-200 y 100-1000 µL	Eppendorf
Puntas de micropipeta	2-20, 10-100, 20-200 y 100-1000 µL	Eppendorf
Filtro de membrana	0.20, 0.45, 1, 2 y 8 µm	Whatman
Gasa	Rollo	N/A
Matraz	100, 250, 500 y 1000 mL	PYREX
Vaso de precipitación	50, 100, 250, 500 y 1000 mL	PYREX
Probeta	10, 50, 100, 250, 500 y 1000 mL	PYREX
Matraz de aforación	25, 50, 100, 250, 500 y 1000 mL	PYREX
Tubo de centrifugación	1.5, 5, 15 y 50 mL	Corning
Cajas Petri	Unidad	N/A
Microplacas (96 pocillos)	Unidad	Corning
Termómetro	Unidad	Alla France
Porta y cubre objetos	Unidad	N/A
Medio de cultivo YM	500 g	BD, Bioxon
Medio de cultivo LB	500 g	Merck
Agar microbiológico	500 g	Merck
Dimetilsulfóxido DMSO	500 mL	N/A
Á. 3,5-Dinitrosalicílico		
DNS	mL	N/A
Agua bidestilada	mL	N/A
Agua desionizada	mL	N/A
Etanol (70 y 96 %)	20 L	CTR

Tabla 3. Lista de equipos usados para el desarrollo del proyecto.

Equipos	Modelos / Marca
Balanza analítica	AND, GR-200
Balanza	Ohaus, YS series
Plancha de calentamiento	Lab companion, HP3000L
Cabina de flujo laminar	Labconco, Delta series
Centrífuga	Thermo Scientific, Sorvall Legend XFR
Microcentrífuga	Ohaus, FC5515
Incubadora estática	Lab companion, IB-11E
Incubadora con agitación	Lab. companion, IS-971
Concentrador	ThermoFischer, SpeedVac
Liofilizador	Labconco, Freezone-6
Biorreactor	BIOSTAT A, Sartorius stedim
Vortex	Lab-Line, 1195
Congelador – 20 °C/ Refrigerador -4 °C	Norlake scientific, LRF201WWW
Espectrofotómetro UV-Vis	Opizen PLUS, 2120UVPLUS
Lector de microplacas	Multiskan Go, Thermo Scientific
Bomba de vacío	MILLIPORE
Rotavapor	BUCHI, R-100
FTIR	Agilent Cary 630
AFM	Workshop
Thermomixer	Eppendorf, Thermomixer R
Sonicador	VWR, Symphony
Autoclave	(Lorma, 006-0242
HPLC	Agilent
ZetaSizer Nano	Malvern

Tabla 4. Cepas microbianas empleadas.

Cepa Microbiana	Función
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UANL-001L	Producción de EPS
<i>Escherichia coli</i> ATCC	MIC y Antibiopelículas
<i>Staphylococcus aureus</i> multirresistente (SaR)	MIC y Antibiopelículas

El desarrollo del proyecto se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Investigación de Biotecnología y Nanotecnología (CIBYN) de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León y en el Centro de Biotecnología (FEMSA) del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey (ITESM). Estos centros también proporcionaron los materiales (consumible y biológico) requeridos para efectuar nuestra investigación.

4.2. Esquema general del proyecto.

La ejecución del proyecto se realizó en 6 fases experimentales:

Fase 1: Acondicionamiento y producción de stocks de la levadura *R. mucilaginosa* UANL-001L, encargada de la síntesis de EPS. Con esta fase se buscó disminuir e impedir la variabilidad genética entre los inóculos iniciales usados para los diferentes análisis del estudio (Figura 1).

Fase 2: Preparación y caracterización de los extractos elaborados con cáscara de plátano en combinación con cáscaras de papa y naranja como fuente de carbono y nutrientes para la producción de EPS, a fin de establecer las condiciones óptimas para el crecimiento de *R. mucilaginosa* UANL-001L en los extractos y posterior generación de EPS (Figura 1).

Fase 3: Producción de EPS, en esta fase efectuó la extracción y purificación de los EPS resultantes de la inoculación de *R. mucilaginosa* UANL-001L en los extractos a base de cáscaras de plátano, papa y naranja (Figura 1).

Fase 4: Caracterización de EPS, consistió en la ejecución de distintos análisis que permitan conocer las propiedades físicas, químicas, la actividad antimicrobiana y antibiopelícula de los EPS obtenidos (Figura 1).

Fase 5: Aplicación de EPS, se llevaron a cabo varias pruebas y análisis para determinar las aplicaciones de nuestro EPS en la industria (Figura 1).

Fase 6: Escalamiento de EPS, esta fase se enfocó en evaluar el impacto sobre la producción del EPS el escalamiento a volúmenes más grandes de producción, pasando de 200 mL a 5 L de volumen final (Figura 1).

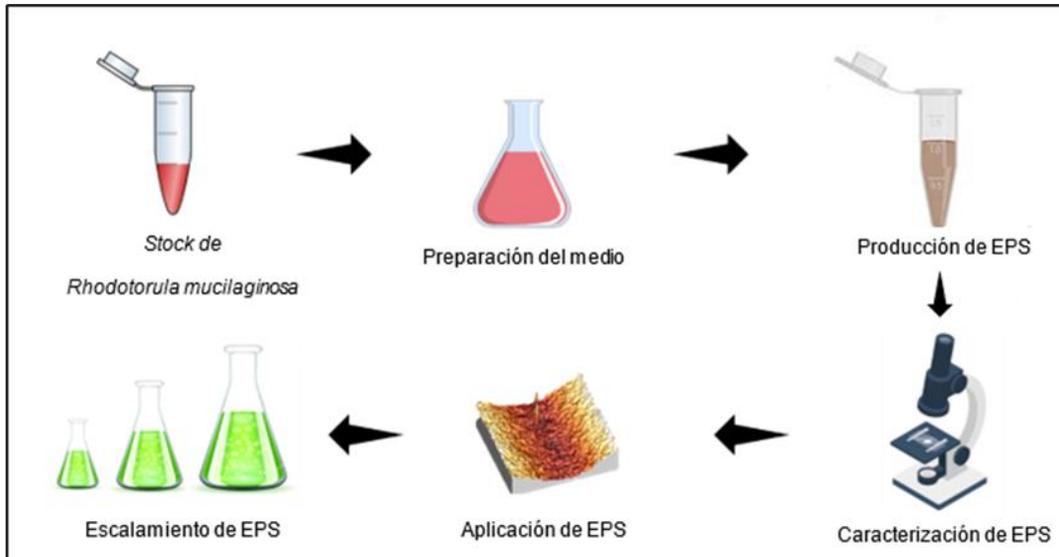


Figura 1. Esquema general del proyecto.

4.3. Producción de stocks de *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L.

El acondicionamiento y producción de stocks de *R. mucilaginosa* UANL-001L, se realizó empleando el caldo YM (yeast malt extract) compuesto por extracto de levadura 3 g/ L, extracto de malta 3 g/ L, peptona 5 g/ L y dextrosa 10 g/ L, a una concentración de 2.1 %. Posteriormente con un asa estéril se tomó una colonia de *R. mucilaginosa* UANL-001L y se inoculó en un tubo eppendorf con 10 mL del medio previamente esterilizado a 121 °C/ 15 minutos. Después se colocó el tubo inoculado en un Thermomixer por 24 h a 28 °C y 300 rpm de agitación. Una vez transcurrido el tiempo indicado se procedió a medir la densidad óptica a 600 nm (DO= 1.0). Finalmente, para comprobar la pureza de las células se efectuó una siembra en placa con YM al 2.1 % y 2 % de agar microbiológico, las placas fueron incubadas a 28 °C por 48 h y se observó al microscopio electrónico (Figura 2).

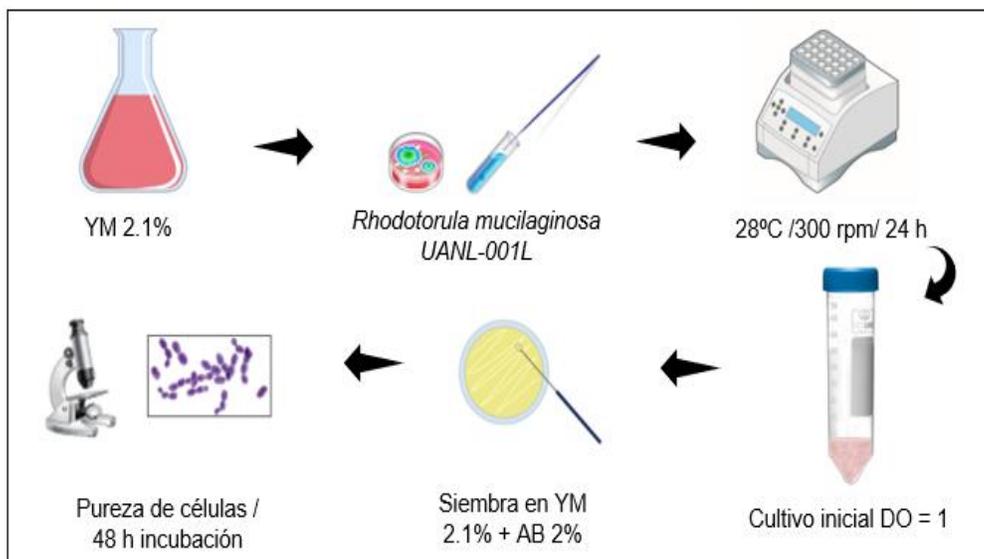


Figura 2. Producción de stocks de *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L.

4.4. Preparación de los extractos a base de cascavas de plátano, papa y naranja.

Los residuos agroindustriales (cascavas de plátano, papa y naranja) utilizados para la preparación de los extractos, fueron recolectados de las industrias hortofrutícolas y pequeños negocios Monterrey, México. Las muestras fueron recolectadas en bolsas Zyploc y trasladadas al laboratorio para su posterior análisis y almacenamiento en refrigeración.

Para la preparación de los extractos inicialmente se contemplaron tres tratamientos de la cáscava de plátano, combinando este con las cascavas de papa y naranja (plátano/naranja-PT/NA 50/50, plátano/papa-PT/PP 50/50 y plátano/naranja/papa-PT/NA/PP 50/25/25). Posteriormente, con base en surgimiento de los resultados, se incorporaron al estudio los extractos individuales de las cascavas de plátano (PT), naranja (NA) y papa (PP). Dando un total de 7 extractos a evaluar, 6 extractos de residuos agroindustriales y el caldo YM usando de control, como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Tratamientos para la elaboración de los extractos de las cascavas de plátano, papa y naranja y el caldo YM.

Tratamientos	Composición (%)
Plátano/Naranja (PT/N)	50/50
Plátano/Papa (PT/P)	50/50
Plátano/Papa/Naranja (PT/NA/PP)	50/25/25
Plátano (PT)	100
Naranja (NA)	100
Papa (PP)	100
YM	100

Los extractos se prepararon utilizando cascaras sin tratamiento previo. Las cascaras se cortaron, pesaron y se colocaron 20 g, en vasos de precipitado de 250 mL y se añadió 200 mL de agua destilada a cada vaso, para lograr una concentración final de 100 g/L (g de residuo/litro de agua). Usando una placa de calentamiento se hirvieron las muestras a 80 °C durante 10 min y luego se enfriaron a temperatura ambiente durante 20 min. Se realizó un prefiltrado de los extractos con gasa para retener los restos grandes de las cascaras y el filtrado con un filtro de celulosa de 2 µm (Whatman) con una bomba de vacío Buchner. Finalmente, los extractos se colocaron en matraces Erlenmeyer de 250 mL y se esterilizaron a 121 °C por 15 min (Figura 3) (Molina et al., 2023; Torres-Álvarez et al., 2022). Todos los experimentos y análisis efectuados en este estudio se realizaron por triplicado (n = 3).

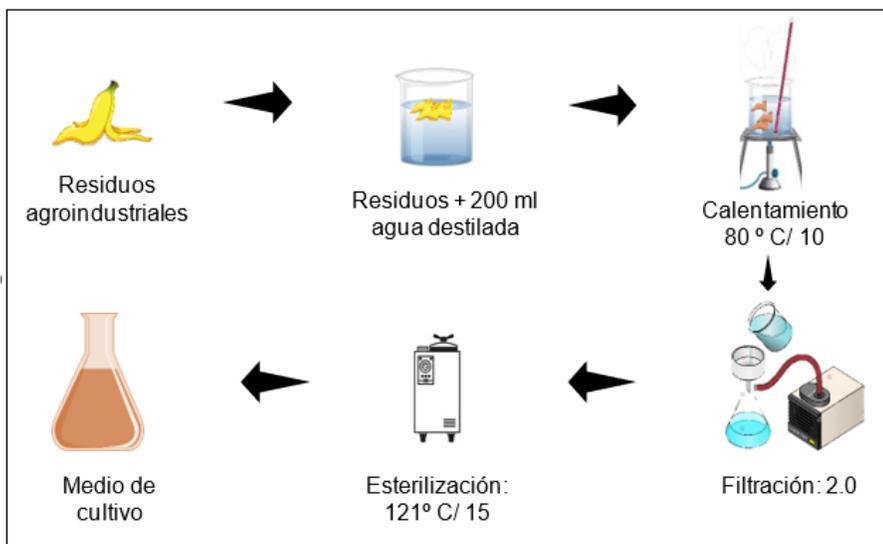


Figura 3. Preparación de los extractos de las cascaras de plátano, papa y naranja.

4.5. Diseño experimental de los extractos combinados PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP.

A fin de encontrar el mejor tratamiento y las condiciones óptimas que permitan obtener la mayor producción de EPS a partir de la cáscara de plátano combinado con cascaras de papa y naranja, se realizó un diseño experimental considerando como variables las composiciones de los extractos PT/NA (50/50); PT/PP (50/50) y PT/PP/NA (50/25/25) y las variables de exposición (100 g/L; 200 g/L; 100 g/L + 1.5 % de inóculo y 100 g/L + 120 h de incubación, considerando constantes la temperatura y el tiempo constantes en 80 °C y 10 min (Tabla 6).

Tabla 6. Diseño experimental de los extractos combinados para la producción de EPS.

Muestra	Tratamientos	Variables
1	PT/NA (50/50)	100 g/L
2	PT/NA (50/50)	200 g/L
3	PT/NA (50/50)	100 g/L + 1.5 % inóculo
4	PT/NA (50/50)	100 g/L + 120 h incubación
1	PT/PP (50/50)	100 g/L
2	PT/PP (50/50)	200 g/L
3	PT/PP (50/50)	100 g/L + 1.5 % inóculo
4	PT/PP (50/50)	100 g/L + 120 h incubación
1	PT/NA/PP (50/25/25)	100 g/L
2	PT/NA/PP (50/25/25)	200 g/L
3	PT/NA/PP (50/25/25)	100 g/L + 1.5 % inóculo
4	PT/NA/PP (50/25/25)	100 g/L + 120 h incubación

4.6. Caracterización proximal de los extractos.

Las características fisicoquímicas de los extractos de cascaras de plátano, papa y naranja se evaluaron mediante análisis proximales (pH, humedad, sólidos totales, sólidos solubles, cenizas y contenido de nitrógeno) empleando métodos gravimétricos, siguiendo los protocolos de la NMX-AA-034-SCFI-2015 (2015) y Quintero-Curvelo et al (2017) con modificaciones.

Los valores de potencial hidrógeno (pH) de los extractos se midieron utilizando un potenciómetro OHAUS previamente calibrado. El contenido de humedad se obtuvo mediante la diferencia de pesos entre las muestras húmedas y secas. Asimismo, para determinar la masa sólida total se agregó 5 mL de las muestras en cápsulas de cerámica y se secaron a 105 °C por 2 h. Mientras que, el residuo inorgánico o cenizas se obtuvo calcinado en una mufla a 550 °C por 30 min las muestras previamente secas y el contenido de sólidos volátiles se obtuvo quitando el valor de las cenizas de la masa sólida total (Figura 4).

El contenido de nitrógeno total se obtuvo empleando el método de Kjeldahl A.O.A.C 928.08, 1990, señalados por (Florida-Rofner & Reategui-Diaz (2019) y Quintero-Curvelo et al (2017)). Consiste en mezclar 5 g de muestra, 10 g de catalizador Kjeldahl y 20 mL de H₂SO₄ al 98 %. Luego se calienta la mezcla a 500 °C por 1 h, y se añade 50 mL de NaOH al 50 % para neutralizar y transformar el NH₄⁺ en NH₃. La mezcla se destila para recupera el NH₃ en H₃BO₃ al 4 % y pH de 4.65 y se valorizó con HCl a 0.25 mol/L (Figura 4). Finalmente, la concentración de nitrógeno se determinó con la siguiente fórmula:

Fórmula 1. % Nitrógeno = (mL HCl – mL blanco) x N del HCl x 1.4007/peso de la muestra (g).

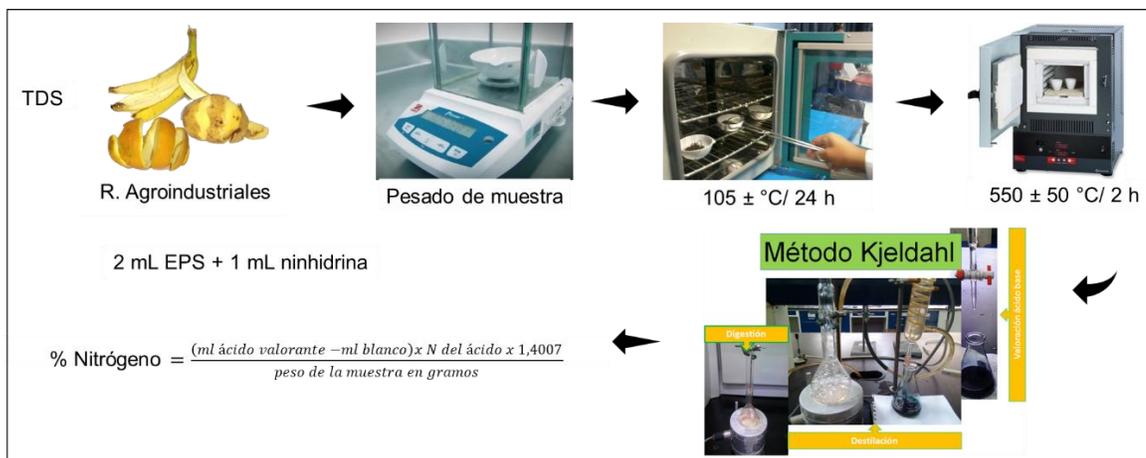


Figura 4. Caracterización proximal de los extractos de las cáscaras de plátano, papa y naranja.

4.7. Cinética de crecimiento de *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L en los extractos.

Para conocer la evolución de *R. mucilaginosa* UANL-001L en los extractos, se inoculó 200 mL de cada uno de los extractos de cascara con 2 mL (1 %) del stock de la levadura previamente crecido hasta alcanzar una densidad óptica de 1 a 600 nm. Los extractos inoculados se incubaron durante 120 h a 28 °C y 200 rpm de agitación. Se tomó 1 mL de muestra cada 24 h para medir con un espectrofotómetro (Optizen 2120 UV Plus) la $DO_{600\text{ nm}}$ de la levadura en los extractos (Figura 5).

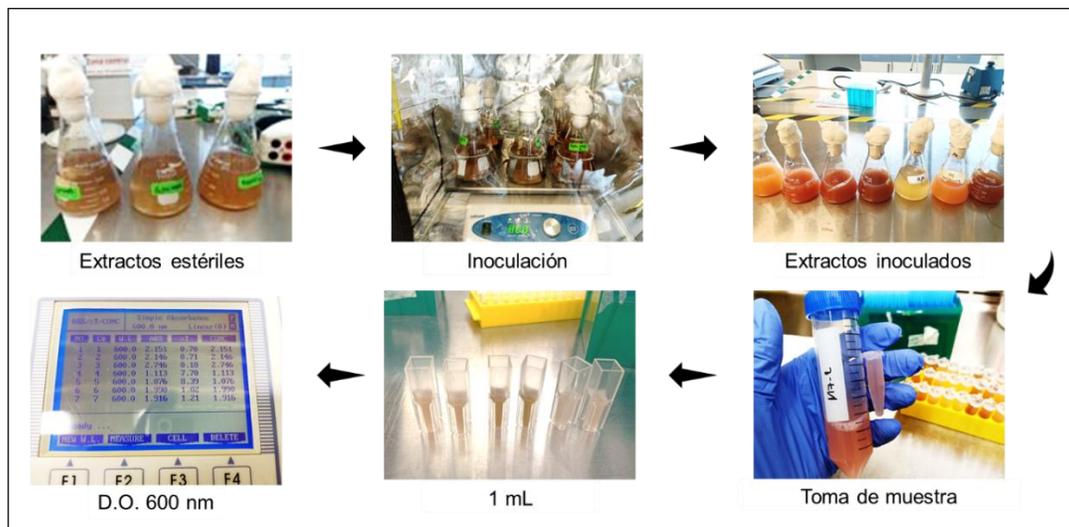


Figura 5. Crecimiento de *R. mucilaginosa* UANL-001L en los extractos.

4.8. Consumo de azúcares reductores en los extractos.

La concentración de azúcares reductores en los extractos inoculados se determinó por el método colorimétrico del ácido 3,5-Dinitrosalicílico-DNS (Du et al., 2023; Montañez, 2020). Primero se realizó una curva de referencia de 0 a 5 g/L de glucosa con agua destilada. Después, se tomó 1.5 mL de cada muestra y se centrifugó a 10 000 rpm por 5 min en una microcentrífuga (OHAUS FC5515). Se mezcló 25 μ L de sobrenadante y 25 μ L del DNS en un eppendorf de 1.5 mL, se calentó la mezcla a 95 °C por 5 min. Luego se añadió 250 μ L de agua ultrapurificada y se pasó la mezcla a una microplaca de 96 pocillos para medir la

absorbancia con un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 540 nm (Figura 6). La cuantificación de azúcares se efectuó en intervalos de 24 h, registrando un total de 6 lecturas a las 0, 24, 48, 72, 96 y 120 h del crecimiento de *R. mucilaginosa* UANL-001L.

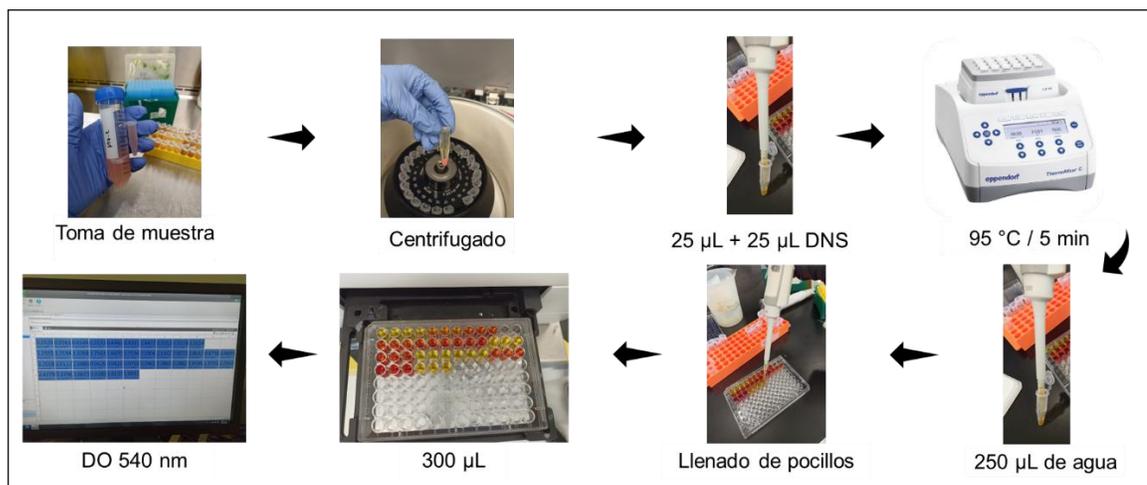


Figura 6. Determinación del consumo de azúcares reductores de los extractos.

4.9. Caracterización elemental de la biomasa de *R. mucilaginosa* UANL-001L.

Para determinar la producción y la composición elemental de la biomasa de *R. mucilaginosa* UANL-001L después de 96 h de crecimiento en los extractos combinados PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP, se tomaron 50 mL de cada extracto inoculado. Las muestras se centrifugaron en tubos Falcon a 10 000 rpm durante 10 min para separar la biomasa del sobrenadante. La biomasa obtenida se recolectó y lavó tres veces con agua destilada para eliminar restos celulares, y luego se liofilizaron con el fin de remover toda el agua contenida. Se cuantificó el contenido de carbono, nitrógeno, hidrógeno y azufre utilizando un analizador elemental CHNS/O (PerkinElmer 2400).

4.10. Extracción de carotenoides de la biomasa de los extractos de cascaras.

La extracción de carotenoides se realizó tomando 1.5 mL del medio inoculado con *R. mucilaginoso* UANL-001L tras 96 h de crecimiento. Las muestras se centrifugaron a 10 000 rpm durante 10 min para recuperar la biomasa, descartando el sobrenadante. La biomasa se lavó tres veces con agua ultrapura, y luego se le agregó dimetilsulfóxido (DMSO) previamente calentado a 45 °C. Posteriormente, se mezcló en un Vortex hasta resuspender completamente el pellet de biomasa, liberando así los carotenoides intracelulares. Las muestras fueron centrifugadas nuevamente a 10 000 rpm por 10 min para recolectar el sobrenadante. Este proceso de adición de DMSO, mezclado y centrifugado se repitió hasta que el pellet de biomasa perdió su color, indicando que los carotenoides fueron completamente extraídos. Finalmente, se midió la DO del sobrenadante a 501 nm (Figura 7). A partir de estos datos, se calculó y expresó el contenido total de carotenoides volumétricos (C.V mg/L) y carotenoides celulares (C.C µg/g de células secas), utilizando el coeficiente de extinción ($E_{1\text{cm}} = 2040$) y las siguientes fórmulas:

Fórmula 2. $CV \text{ (mg/L)} = (A * V * 10^6) / (E_{1\text{cm}}^{1\%} * 100)$

Donde:

- CV = Carotenoides volumétricos (mg/L)
- A = Absorbancia a 501 nm
- V = Volumen total del solvente
- $E_{1\text{cm}}^{1\%}$ = Coeficiente de extinción

Fórmula 3. Carotenoides celulares (µg/g de células secas) =
(Carotenoides/L) / (Peso de células secas en g/L).

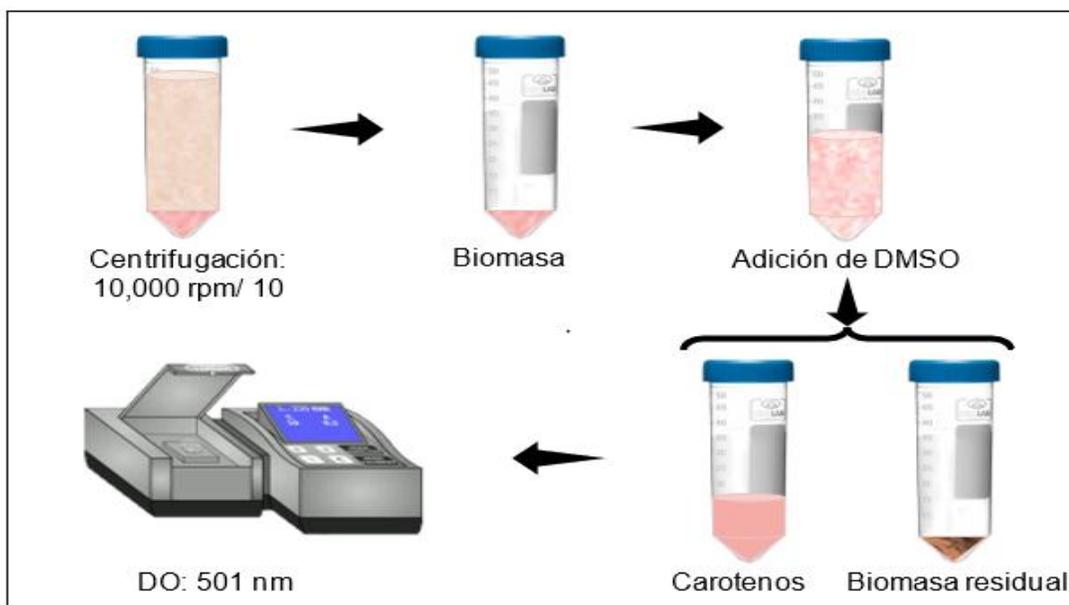


Figura 7. Extracción de carotenoides de la biomasa de los extractos de cascaras y del YM.

4.11. Producción de EPS de las cascaras de plátano, papa y naranja.

La extracción de los EPS se llevó a cabo siguiendo los protocolos descritos por Garza-Cervantes et al (2019) y Vázquez-Rodríguez et al (2018). El procedimiento consistió en inocular los medios de cultivo con un 1 % del cultivo inicial de *R. mucilaginoso* UANL-001L, incubándolos durante 96 h a 28 °C con agitación constante de 200 rpm. Una vez finalizada la incubación, las muestras se centrifugaron a 10 000 rpm para separar el sobrenadante, que contiene los EPS, de la biomasa, la cual fue descartada. El sobrenadante fue filtrado utilizando un filtro de membrana de 0.45 µm y posteriormente se añadió etanol absoluto en una proporción de 1:3 (1 mL de medio por 3 mL de etanol) y se dejó a -20 °C durante 12 h para precipitar los EPS. Las muestras precipitadas se centrifugaron a 10 000 rpm por 20 min para eliminar el etanol y recuperar el pellet de EPS. Este pellet se lavó dos veces con etanol al 70 %. Los EPS obtenidos fueron concentrados a 45 °C por 5 h y, tras el secado, se procedió a su pesado y caracterización (Figura 8).

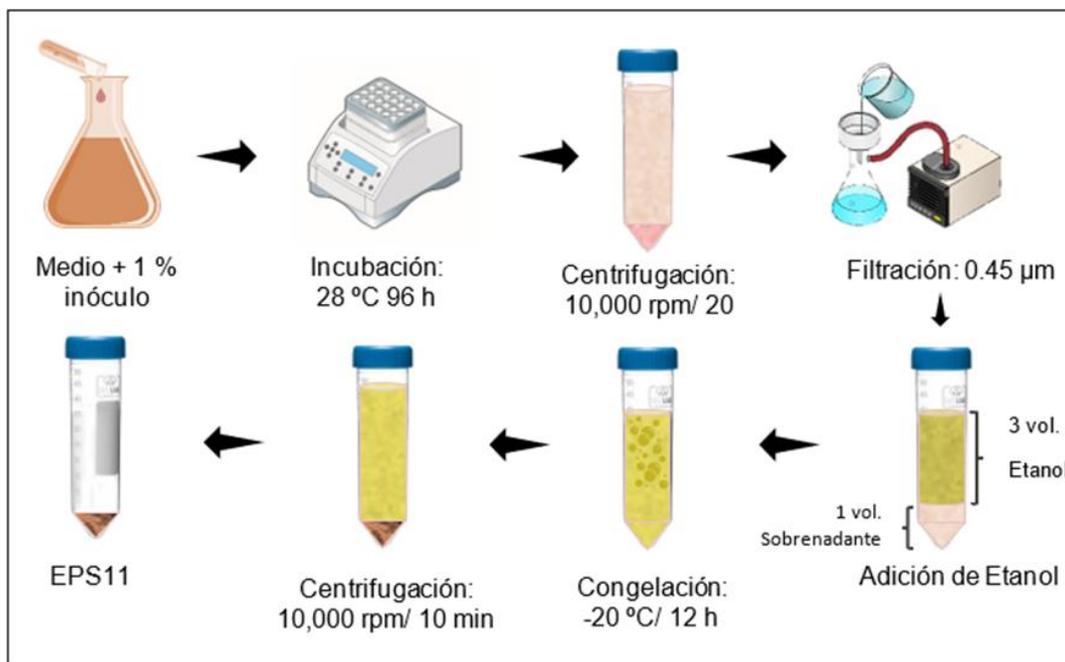


Figura 8. Recuperación de EPS de los extractos de cascaras de plátano, papa y naranja.

4.12. Caracterización morfológica de los EPS.

La caracterización morfológica superficial de los EPS conseguidos a partir de los extractos de cascaras de plátano, papa y naranja, se llevó a cabo mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM). Las micrografías fueron obtenidas utilizando un microscopio electrónico de barrido de alta resolución, modelo Nova NanoSEM 200 FEI, lo que proporcionó imágenes detalladas y precisas de las estructuras superficiales de los biopolímeros.

4.13. Evaluación de grupos funcionales de los EPS (FTIR).

La identificación de los grupos funcionales presentes en los EPS de los residuos agroindustriales se realizó mediante espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). Para este análisis, se empleó un espectrómetro Agilent Cary 630, el cual permitió obtener los espectros necesarios para conocer las interacciones químicas y los grupos funcionales clave en los EPS.

4.14. Análisis elemental de los EPS.

Para la cuantificación de carbono, nitrógeno, hidrógeno y azufre (CHNS) presentes en los EPS, se pesaron 6 mg de cada muestra y se analizaron utilizando un analizador elemental CHNS/O (PerkinElmer 2400). Este equipo permitió determinar de manera precisa la estructura y composición elemental de los biopolímeros.

4.15. Presencia y composición de monosacáridos en los EPS.

La presencia y composición de los monosacáridos en los EPS de las cascavas de plátano, papa y naranja, se evaluó siguiendo los protocolos descritos por Rodríguez (2008) y Torres-Álvarez et al (2022) con algunas modificaciones. Comenzando con la digestión de las muestras mediante hidrólisis ácida. Se pesaron 50 ± 0.5 mg de cada muestra de EPS (con un contenido de humedad inferior al 6 %) y se depositaron en tubos de presión. A todos los tubos se añadió 0.50 ± 0.01 mL de ácido sulfúrico al 72 % y se mezcló cuidadosamente con una varilla de agitación para asegurar que toda la muestra se humedezca. Los tubos se colocaron en un baño maría a 30 °C durante 60 min, agitando cada 10 min sin retirar los tubos del agua. Simultáneamente, se preparó los estándares de recuperación con los monosacáridos: fucosa, galactosa, xilosa, fructosa, arabinosa, maltosa, manosa, glucosa, ácido galacturónico, sorbitol y manitol, a las mismas concentraciones de las muestras de EPS. Tras los 60 min de digestión, se diluyó el ácido a 4 % añadiendo 14 mL de agua grado HPLC a cada tubo. Los tubos se esterilizaron a 121 °C por una hora y se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Finalmente, las muestras hidrolizadas se filtraron con filtros de jeringa de 0.2 μ m y se almacenaron a -20 °C hasta su análisis por cromatografía líquida (HPLC).

Para el análisis cromatográfico, se preparó una fase móvil ácida a 5 mM (278 μ L de ácido sulfúrico/L de agua HPLC). Además, se prepararon estándares de calibración de los monosacáridos mencionados, utilizando cinco diluciones

equidistantes de los azúcares (25 mg/mL, 20 mg/mL, 15 mg/mL, 10 mg/mL y 5 mg/mL) para generar la curva de calibración. El análisis se llevó a cabo con una columna Aminex HPX87H a una temperatura de 60-65 °C, utilizando el detector de índice de refracción (IR). El volumen de inyección de la muestra fue de 15 µL y la velocidad de flujo de la fase móvil se mantuvo a 0.60 mL/min. Cada corrida cromatográfica tuvo una duración de 45 minutos

4.16. Determinación del peso molecular de los EPS.

El peso molecular de los EPS de residuos agroindustriales se determinó utilizando un cromatógrafo HPLC Agilent RID-20A (SHIMADZU), equipado con un detector de índice de refracción (IR) y una columna Rezex Polymeric HPLC. La separación se realizó a una temperatura de 80-85 °C, con una velocidad de flujo de la fase móvil (agua de grado HPLC) de 1 mL/min. El volumen de inyección de las muestras fue de 15 µL, y el tiempo total de corrida fue de 35 min. Las muestras de EPS, así como los estándares de pululanos de diferentes pesos moleculares (MW 180, MW 667, MW 5.900, MW 11.800, MW 22.800, MW 47.300, MW 112.000, MW 212.000, MW 404.000 y MW 788.000), se prepararon a una concentración de 5 mg/mL utilizando agua de grado HPLC. Previo a su inyección las muestras y los estándares fueron filtrados con filtros de jeringa de 0.45 µm para eliminar partículas y asegurar la pureza de las soluciones.

4.17. Tamaño de partícula de los EPS

El tamaño de partícula de los EPS se determinó utilizando un ZETASIZER NANO (Malvern). Las muestras de EPS se disolvieron en agua ultrapura a una concentración final de 0.3 mg/mL. Luego se pipetearon 0.5 mL de cada solución en cubetas de espectrofotometría, las cuales se introdujeron en el equipo para su análisis. El tamaño de partícula se obtuvo en nanómetros (nm).

4.18. Determinación de aminoácidos libres en los EPS.

La determinación de aminoácidos libres en los EPS se efectuó mediante la medición del nitrógeno alfa-amino (FAN), siguiendo el protocolo descrito por

Wilson W. (2008), con algunas modificaciones para adaptarlo a las condiciones experimentales. Previamente al análisis se prepararon 4 soluciones de trabajo: 1) el reactivo de ninhidrina con 3.96 g de fosfato de sodio dibásico monohidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 6 g fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4), 0.5 g ninhidrina y 0.3 g de fructosa, para un volumen final de 100 mL en agua ultrapura; 2) la solución de dilución disolviendo 0.5 g de yodato de potasio (KIO_3) en 150 mL de agua y añadiendo 100 mL de etanol absoluto (99.9 %); solución patrón de glicina aforando 26.8 mg de glicina en 25 mL de agua ultrapura y 4) solución de trabajo de glicina diluyendo 1 mL de la solución patrón en 100 mL de agua.

Para en análisis se colocó 2 mL de cada muestra incluido la glicina y agua como control en tubos de ensayo y se añadió 1 mL del reactivo de ninhidrina. Se ebulleron los tubos durante 16 min en un baño de agua caliente. Después se enfriaron los tubos por 15 min en agua a 20 °C hasta llegar a temperatura ambiente. Se agregó 5 mL de la solución de dilución y se traspasó 300 μL a una microplaca para leer la absorbancia a 570 nm (Figura 9). Los resultados de aminoácidos libres se obtuvieron con la siguiente formula:

Fórmula 4.

$$\frac{\text{mg de nitrogeno amino libre}}{L} = \frac{\text{Promedio de Absorbancia} \times 2 \times \text{Dilución}}{\text{Promedio de Absorbancia de Glicina}}$$

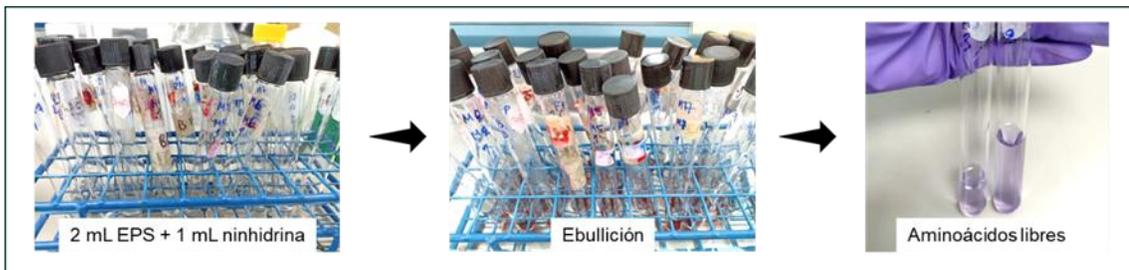


Figura 9. Reacción alfa-amino (FAN) para determinar los aminoácidos libres en los EPS.

4.19. Actividad antimicrobiana de los EPS (MIC).

La actividad antimicrobiana de los diferentes EPS se evaluó utilizando ensayos de concentración MIC en placas de 96 pocillos (Costar-Corning). Se prepararon 15 soluciones de EPS a dos concentraciones finales: 2.5 mg/mL y 6 mg/mL, utilizando caldo LB ajustado a pH 7 como vehículo. Los primeros seis pocillos de la fila 1 se usaron como control de esterilidad, llenándolos con 200 μ L de LB solamente. Los pocillos del 7 al 12 de la misma fila se destinaron al control de crecimiento, llenándolos con 100 μ L de LB y 100 μ L de cultivos nocturnos de *E. coli* y *Staphylococcus aureus* incubados a 37 °C durante 24 h a 150 rpm y diluidos 1:10 en medio LB fresco.

El resto de los pocillos se llenaron con 200 μ L de una mezcla que incluía las soluciones de EPS, los cultivos bacterianos diluidos a 1:10 y el medio LB necesario para alcanzar las diferentes concentraciones de EPS. Las concentraciones finales evaluadas para la solución de 2.50 mg/mL fueron: 1.25, 0.63, 0.31, 0.16, 0.08 y 0.04 mg/mL, y para la solución de 6.00 mg/mL fueron: 3.00, 1.50, 0.75, 0.38, 0.19 y 0.09 mg/mL. Tras la adición del cultivo bacteriano a los pocillos, la placa se incubó durante 24 h a 37 °C y 100 rpm de agitación, hasta alcanzar una concentración final de 10^5 células/mL. Por último, se midió la densidad óptica a 600 nm ($DO_{600\text{ nm}}$) para evaluar el crecimiento (Figura 10).

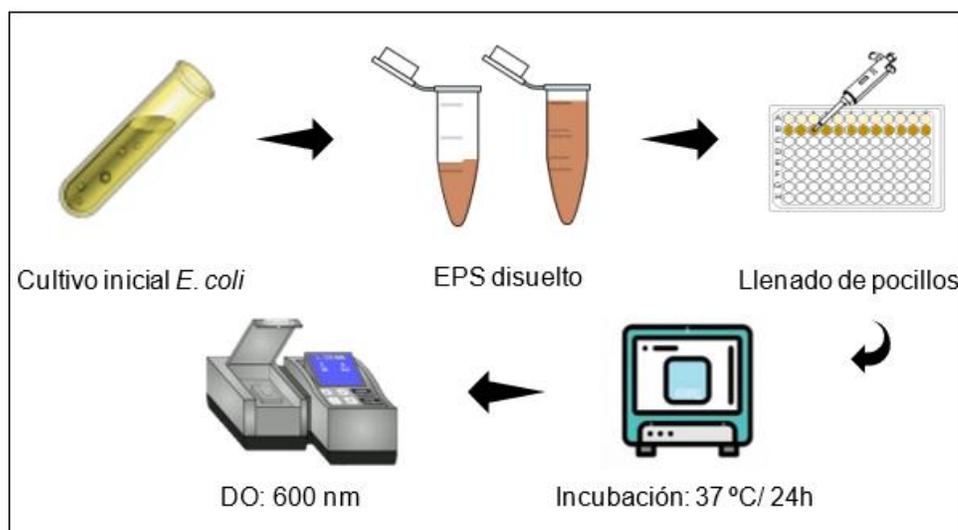


Figura 10. MIC de los EPS de las cascaras frente a *E. coli* y *S. aureus*.

4.20. Efecto antibiopelícula de los EPS.

Los ensayos del efecto antibiopelícula de los EPS se llevó a cabo empleando el método de tinción con cristal violeta descrito por (Garza-Cervantes et al (2019) y Vazquez-Rodríguez et al (2018) con modificaciones. Iniciando con el llenado de los pocillos de la placa (96 pocillos) con las soluciones de EPS a las mismas concentraciones utilizadas para las MICs: 2.50, 1.25, 0.63, 0.31, 0.16, 0.08 y 0.04 mg/mL, los cultivos de *E. coli* y *S. aureus* diluidos 1:10 y el medio LB necesario para una concentración final de 10^5 células/mL por pocillo con 200 μ L. Además, en la misma placa se establecieron los controles de esterilidad y crecimiento. Las placas inoculadas se incubaron durante 40 h a 37 °C sin agitación.

Transcurrido ese tiempo se retiró el sobrenadante de las placas y se lavó 3 veces con agua ultrapura. Luego se secaron las placas en una estufa a 70 °C por 45 min. Se añadió 240 μ L de cristal violeta al 0.1 % a cada uno de los pocillos y se dejó reposar por 20 min. Después se eliminó el colorante de los pocillos teñidos lavando 3 veces con agua milliq (mQ) y se secó nuevamente 45 min en la estufa a 70 °C. Una vez secas las placas, se agregó 250 μ L de etanol absoluto en los pocillos para desteñir y se dejó reposar 30 min a temperatura ambiente. Finalmente, se transfirió 100 μ L de la mezcla etanol/colorante a una placa nueva para medir la densidad óptica a 590 nm (Figura 11).

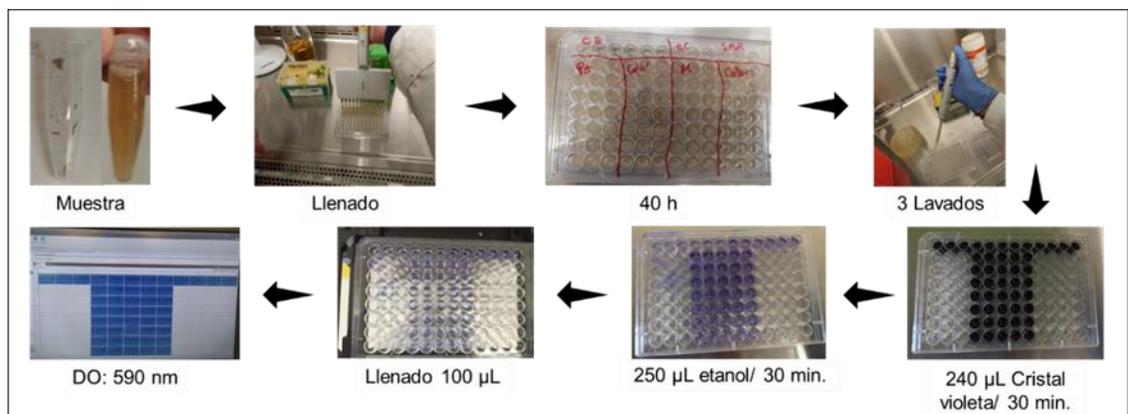


Figura 11. Efecto antibiopelícula de los EPS de cascaras frente a *E. coli* y *S. aureus*.

4.21. Elaboración de películas delgadas de los EPS obtenidos.

Las películas delgadas de bioplástico se elaboraron mediante la técnica de recubrimiento por rotación, siguiendo el protocolo de Filip et al (2023). Inicialmente, los EPS fueron resuspendidos en etanol al 70 % a una concentración de 5 mg/mL, utilizando un sonificador para lograr una mezcla homogénea. Se limpiaron los sustratos de vidrio (portaobjetos) con acetona, alcohol isopropílico y agua destilada, sonicando durante 10 min con cada solvente para asegurar una superficie libre de impurezas. Los recubrimientos se elaboraron utilizando un equipo SPIN COATER, a 1000 rpm por 1 minuto, añadiendo 1 mL de muestra en la superficie del sustrato, permitiendo que la fuerza centrífuga distribuya la solución uniformemente, mientras que el exceso era expulsado. Después los sustratos con las películas adheridas se secaron a 37 °C durante 5 min, para su posterior análisis (Figura 12).

4.22. Morfología superficial de las películas de EPS, mediante AFM.

A fin de evaluar la morfología y la topografía superficial de las películas obtenidas de los EPS de las cascarras de plátano, papa y naranja, se efectuó un análisis de microscopía de fuerza atómica (AFM). Este análisis permitió obtener detalles precisos sobre la estructura superficial de las películas delgadas, así como validar la viabilidad de los EPS para su uso potencial en la fabricación de películas delgadas y recubrimientos (Figura 12).

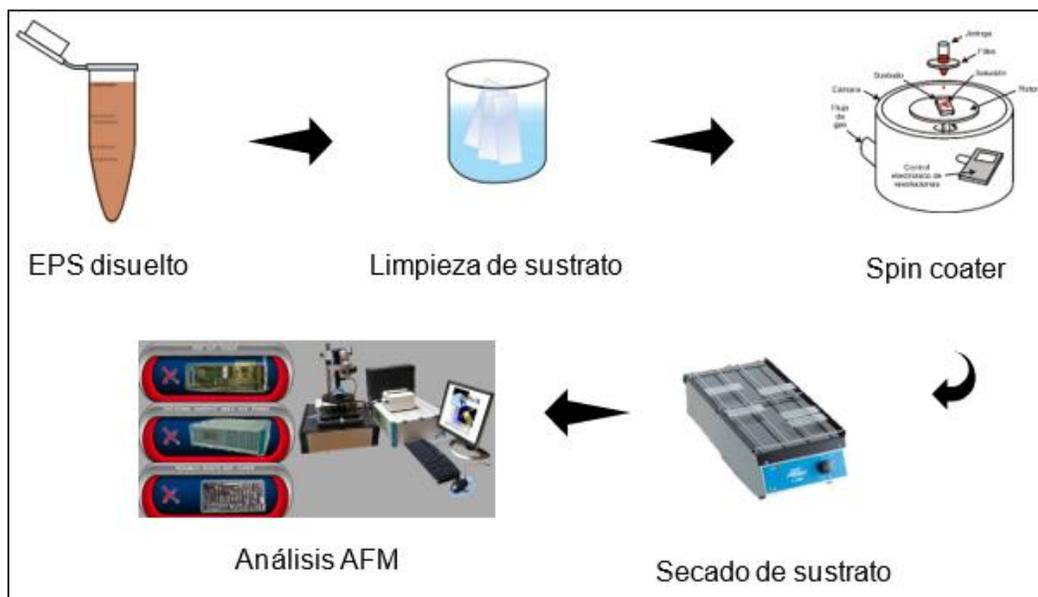


Figura 12. Evaluación de los EPS como películas y recubrimientos alimenticios.

4.23. Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas de EPS.

La permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas de EPS se evaluó empleando un sistema diseñado para mantener el equilibrio en condiciones controladas. Para ello, se utilizó una balanza analítica de alta precisión (0.0001 g), ubicada dentro de un desecador que contenía gel de sílice como desecante (Figura 12). La película de EPS se fijó a la abertura de un vaso de precipitado de 50 mL de boca ancha (con un área expuesta de $1.134 \times 10^{-3} \text{ m}^2$). El vaso se llenó previamente con agua destilada hasta el 50 % de su capacidad total y, a continuación, se colocó sobre la balanza dentro del desecador. Para garantizar el control de la temperatura a 25 °C deseada, se introdujo un sensor de temperatura en el desecador, el cual se selló herméticamente con su tapa. Las mediciones de pérdida de peso se realizaron en intervalos de 30 min durante un periodo de 10 h. La pérdida de peso fue registrada gráficamente en función del tiempo (g/s), y la pendiente se determinó mediante análisis de regresión lineal.

La WVP se calculó utilizando la siguiente ecuación:

Fórmula 5. $WVP = (w/t) * (x/\Delta P * A)$

Donde:

- **w/t** (g/h) es la masa de agua que permea por unidad de tiempo,
- **x** (mm) es el grosor de la película,
- **A** (m²) es el área expuesta de la película,
- **ΔP** (Pa) es la diferencia de presión de vapor de agua (3166 Pa a 25 °C).

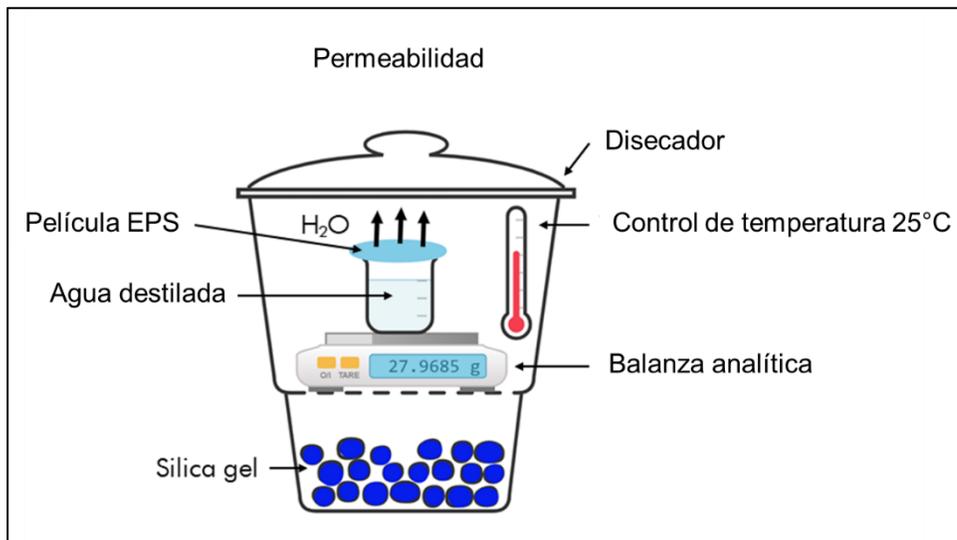


Figura 13. Sistema para medir la permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas de EPS.

4.24. Solubilidad de las películas delgadas de EPS en agua y etanol.

La solubilidad de las películas de EPS se evaluó utilizando dos solventes: agua y etanol absoluto. Para ello, las películas se cortaron en secciones cuadradas de 1.0 cm² y se pesaron cuidadosamente para determinar la masa seca inicial (W_0). Las muestras se mantuvieron sumergidas en los solventes por un periodo de 6 h, bajo agitación constante a 180 rpm en un agitador orbital, a una temperatura controlada de 25 °C. Al finalizar el tiempo de inmersión, las porciones de película no disueltas se filtraron cuidadosamente y se secaron en una estufa a 105 °C durante 2 h para eliminar cualquier residuo de solvente. Después del secado, las muestras se pesaron nuevamente para obtener el peso final (W_f). Los

porcentajes de solubilidad en agua WS (%) y etanol ES (%) se calcularon utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Fórmula 6. } WS (\%) = [(W_0 - W_f) / W_0] \times 100$$

Donde:

- **S (%)** es el porcentaje de solubilidad,
- **W₀** es el peso inicial de la película,
- **W_f** es el peso final de la porción no disuelta tras el secado.

Para el caso del etanol, se utilizó la misma fórmula reemplazando WS (solubilidad en agua) por ES (solubilidad en etanol).

4.25. Eficacia de inhibición de las películas de EPS.

La eficacia antimicrobiana de las películas de EPS se determinó mediante ensayos de zona de inhibición (ZOI), frente a *E. coli* y *S. aureus* (SaR). Se inoculó 10 mL de caldo LB con una colonia de cada una de las cepas y se incubó durante la noche a 37 °C. Después la biomasa celular se recuperó por centrifugación a 10 000 g por 5 min y se lavó el pellet con una solución de fosfatos (PBS), agitando en un Vortex para mejorar la dispersión de las células. La biomasa recolectada se resuspendió en 10 mL de LB fresco y la concentración bacteriana se ajustó a una concentración de 10⁵ células/mL. Se distribuyó las soluciones bacterianas de manera uniforme sobre la superficie de placas Petri que contenían agar. Luego las películas de EPS se depositaron en las placas de dos maneras: 1) colocando 10 µL de la solución de la película sobre filtros circulares estériles de 6 mm de diámetro, y 2) depositando directamente las películas cortadas al mismo diámetro del filtro sobre la superficie del agar inoculado, manteniendo en ambos casos una distancia de 2 cm entre cada muestra. Las placas se incubaron por 24 h a 37 °C. Se midieron las zonas de inhibición desde dos lados opuestos del círculo de la película para obtener un valor promedio de la ZOI en milímetros.

4.26. Análisis reológico de los EPS de las cascarras.

El análisis reológico de los EPS extraídos de las cascaras de plátano, papa y naranja, así como del YM, se efectuó empleando un reómetro (Anton Para, Physica MCR 10), siguiendo el protocolo de Rui Fan y colaboradores (2022), con modificaciones. Las muestras de EPS se disolvieron en agua ultrapura (mQ) a una concentración final de 2.5 mg/mL. La disolución se realizó a temperatura ambiente con agitación suave para asegurar la total homogeneización de las soluciones. Se depositó 0.5 mL de cada solución de EPS en el campo de medición del reómetro y el análisis se efectuó a las condiciones de operación para polímeros, con la posición de elevación de 20 mm, posición de medición 1 mm, tasa de corte máxima 3922,75 1/s y estrés de corte máximo de 40 876 Pascales (Pa). La medición se realizó a una temperatura constante de 25 °C.

4.27. Escalamiento del volumen de producción de los EPS YM y NA.

El escalamiento de los extractos YM y NA con mayor producción de EPS, se desarrolló siguiendo el protocolo de Bautista (2020), con modificaciones. El proceso consistió en pasar del volumen de laboratorio de 200 mL hasta 5 litros en un biorreactor (Sartorius Stedim BIOSTAT A), manteniendo las condiciones de la escala de laboratorio para garantizar la consistencia en la producción de EPS (Figura 14). Utilizando el inóculo de *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L al 1 % (50 mL de inóculo en 4.95 L de medio). Tiempo de incubación de 96 h, a 28 °C, pH entre 5 y 6.5 y 200 rpm de agitación, controlando la aireación de forma automática (600 cm³/min). Se efectuaron muestreos cada 24 h para monitorear el crecimiento y consumo de azúcares reductores. La extracción de EPS siguió la metodología descrita previamente (Figura 8).

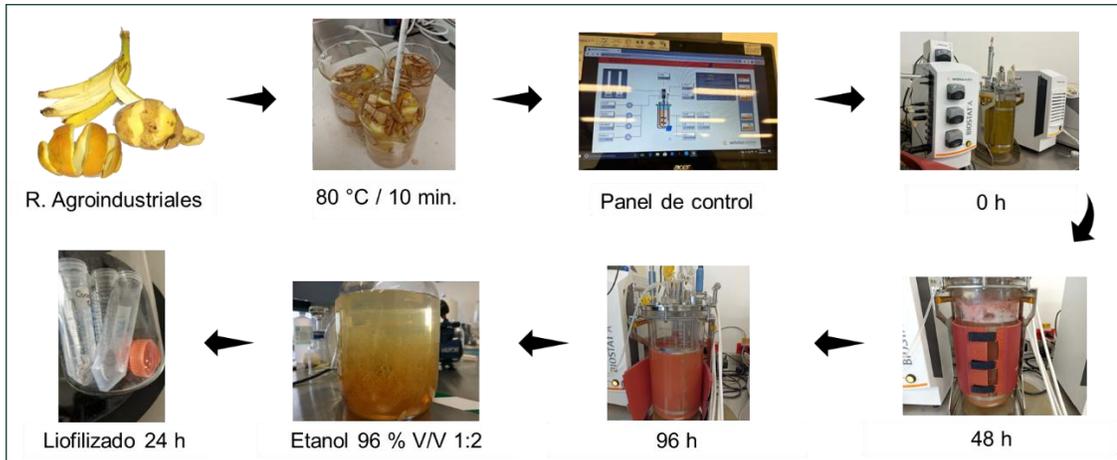


Figura 14. Escalamiento del volumen de producción de los EPS YM y NA.

4.28. Análisis de datos.

A fin de determinar las diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y análisis realizados en esta investigación, todos los datos recopilados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor, seguido de un análisis post hoc mediante la prueba de Tukey, utilizando un nivel de confianza del 95 %.

4.29. Disposición de los residuos generados.

Todos los residuos generados durante el desarrollo de este proyecto de investigación, incluidos residuos biológico-infecciosos, soluciones alcohólicas y solventes orgánicos fueron gestionados y depositados en los contenedores designados por el Departamento de Medio Ambiente y Seguridad de la Facultad de Ciencias Químicas, de acuerdo con su naturaleza y clasificación, cumpliendo estrictamente con el procedimiento PR-CLB-SRR-000.

CAPÍTULO 5

5. RESULTADOS

5.1. Producción stocks de *R. mucilaginosa* UANL-001L y extractos de las cascaras de plátano, papa y naranja.

Los stocks microbianos necesarios para el desarrollo del proyecto se consiguieron empleando el medio YM como fuente de nutrientes para el crecimiento de la cepa *R. mucilaginosa* UANL-001L, misma que es la responsable de la síntesis de EPS cuando alcanza su fase estacionaria de 72 a 96 h de inoculación a temperatura y agitación constante de 28 °C y 200 rpm (Figura 15A).

En la Figura 15B se presentan los extractos obtenidos a partir de la cáscara de plátano combinada con cascaras de papa y naranja (PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP), que fueron empleados como fuente de carbono y nutrientes para la síntesis de exopolisacáridos (EPS) mediante la acción de *R. mucilaginosa* UANL-001L, tras 96 h de incubación a 28 °C y 200 rpm de agitación.

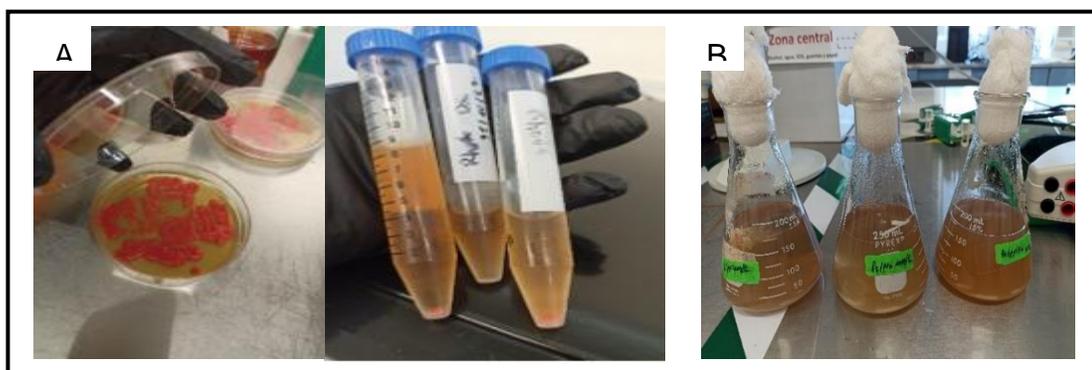


Figura 15. Stock y extractos de cascaras. A) Stocks de *R. mucilaginosa* UANL-001L; B) Extractos de las cascaras de plátano, papa y naranja.

5.2. Síntesis de EPS de los extractos PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP.

El diseño experimental aplicado a los extractos combinados variando las composiciones de los tratamientos: PT/NA (50/50), PT/PP (50/50) y PT/NA/PP (50/25/25) y las condiciones de exposición: (1) 100 g/L, (2) 200 g/L, (3) 100 g/L + 1.5% de inóculo y (4) 100 g/L + 120 h de incubación del extracto con inóculo y siendo la concentración de EPS la variable resultante. Permitió determinar la producción de EPS de cada tratamiento. Se reportaron los promedios de los EPS obtenidos, consiguiendo los mejores resultados con las condiciones T0 + V0 (PT/NA 50/50 a 100 g/L) 470 mg/L y T2 + V1 (PT/NA/PP 50/25/25 a 200 g/L) 476 g/L como se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Diseño experimental de la producción de EPS a partir de los extractos combinados de las cascaras de plátano, papa y naranja.

Tratamientos	Variables	EPS mg/L
PT/NA (50/50)	100 g/L	470
PT/NA (50/50)	200 g/L	431
PT/NA (50/50)	100 g/L + 1.5 % inóculo	266
PT/NA (50/50)	100 g/L + 120 h incubación	242
PT/PP (50/50)	100 g/L	383
PT/PP (50/50)	200 g/L	424
PT/PP (50/50)	100 g/L + 1.5 % inóculo	262
PT/PP (50/50)	100 g/L + 120 h incubación	230
PT/NA/PP (50/25/25)	100 g/L	273
PT/NA/PP (50/25/25)	200 g/L	476
PT/NA/PP (50/25/25)	100 g/L + 1.5 % inóculo	187
PT/NA/PP (50/25/25)	100 g/L + 120 h incubación	195

5.3. Caracterización proximal de los extractos de las cascaras de plátano, papa y naranja.

Se seleccionó una concentración base de 100 g/L para la preparación de los extractos derivados de residuos agroindustriales, estableciendo las siguientes composiciones: extractos individuales de las cascaras de plátano (PT), naranja (NA) y papa (PP) al 100 % y extractos combinados: PT/NA 50/50 %, PT/PP 50/50 % y PT/NA/PP 50/25/25 % (Tabla 8). Así también, los extractos presentaron una

variabilidad de pH que osciló entre 4.0 y 6.0. Correspondiendo el valor más bajo al extracto NA y el más alto al medio PP. Los extractos PT (5.0), PT/NA (4.99), PT/PP (5.48) y PT/NA/PP (5.24) presentaron pH similares o cercanos al óptimo de 5.0, para *R. mucilaginosa* UANL-001L (Tabla 8).

El contenido de sólidos y nitrógeno en los medios se midió por gravimetría y Kjeldahl y se muestran en la Tabla 8. Los resultados revelan que nuestros extractos presentaron porcentajes de humedad entre 79.6 ± 0.08 y 94.5 ± 0.07 %, siendo el contenido más bajo para PP y el más alto para NA. El extracto PT (90.44 ± 0.06 %) y sus combinados PT/NA (85.82 ± 1.24 %), PT/PP (89.04 ± 0.33 %) y PT/NA/PP (86.87 ± 0.92 %), registraron porcentajes de humedad intermedios. Del mismo modo, el mayor contenido de sólidos totales se registró con el extracto PP (20.4 ± 0.08 %) y el menor con el medio PT (9.56 ± 0.06 %). Los extractos NA, PT/NA, PT/PP Y PT/NA/PP reportaron contenidos intermedios de sólidos totales entre 10 y 14 %, reflejando el balance entre la humedad y los sólidos totales de estos residuos. El extracto NA presentó el mayor contenido de sólidos volátiles (96.2 ± 0.11 %) y el menor porcentaje de cenizas (3.8 ± 0.11 %), contrario a este, el extracto de PT registró la mayor cantidad de cenizas (11.87 ± 0.95 %) y menor porcentaje de sólidos volátiles (3.8 ± 0.11 %), validando la presencia de minerales y otros compuestos inorgánicos en la cáscara de plátano. Los extractos PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP reportaron valores intermedios de sólidos volátiles y cenizas entre 89 y 94 % y 5 y 10 % respectivamente.

El contenido de nitrógeno total medido en el método Kjeldahl (Tabla 6) mostró variaciones entre 0.010 ± 0.01 g N/g y 0.026 ± 0.01 g N/g. El mayor valor fue registrado en el medio elaborado con cáscara de plátano (PT), mientras que el menor contenido de nitrógeno fue del extracto NA. Los extractos PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP presentaron concentraciones intermedias de 0.025 ± 0.02 ; 0.018 ± 0.01 ; 0.019 ± 0.01 y 0.024 ± 0.00 respectivamente.

La composición proximal de humedad, S. Volátiles, cenizas y nitrógeno total del extracto de cáscara de naranja (NA) fue diferente significativamente ($P < 0.05$) a la composición de los extractos PT, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP). Mientras que, el contenido de sólidos totales fue diferente solo en el medio PP.

Tabla 8: Perfil de sólidos totales y contenido de nitrógeno total de los extractos PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP.

EPS	pH	Humedad (%)	Sólidos totales (%)	S. Volátiles (%)	Cenizas (%)	N total (%)
PT (100)	5.00	90.44 ± 0.06 ^a	9.56 ± 0.06 ^a	88.13 ± 0.95 ^a	11.87 ± 0.95 ^a	2.6 ± 0.01 ^a
NA (100)	4.00	94.5 ± 0.07 ^d	13.5 ± 0.07 ^b	96.2 ± 0.11 ^c	3.8 ± 0.11 ^c	1.0 ± 0.01 ^f
PP (100)	6.00	79.6 ± 0.08 ^c	20.4 ± 0.08 ^c	94.54 ± 0.17 ^b	5.46 ± 0.17 ^b	2.4 ± 0.00 ^e
PT/NA (50/50)	4.99	85.82 ± 1.24 ^b	14.18 ± 1.24 ^b	93.82 ± 0.68 ^b	6.17 ± 0.68 ^b	1.8 ± 0.01 ^c
PT/PP (50/50)	5.48	89.04 ± 0.33 ^a	10.96 ± 0.33 ^a	89.14 ± 0.35 ^a	10.86 ± 0.35 ^a	2.5 ± 0.02 ^b
PT/NA/PP (50/25/25)	5.24	86.87 ± 0.92 ^b	13.13 ± 0.92 ^b	89.29 ± 0.47 ^a	10.70 ± 0.47 ^a	1.9 ± 0.01 ^d

* Letras distintas indican diferencias significativas $P < 0.05$ y letras similares indican que no hay diferencias significativas $P \geq 0.05$.

5.4. Crecimiento y consumo de azúcares reductores de *R. mucilaginosa* UANL-001L.

La eficiencia de crecimiento de la levadura *R. mucilaginosa* UANL-001L en los extractos elaborados a partir de cascara de plátano, papa, naranja y sus combinaciones PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP, se evaluó a través de las cinéticas de crecimiento ($DO_{600\text{ nm}}$) y el consumo de azúcares reductores ($DO_{540\text{ nm}}$), utilizando como control el medio comercial YM (Figura 16). Nuestros hallazgos (Figs. 16A, 16B, 16C, 16D, 16E, 16F y 16G) revelaron que, aunque *R. mucilaginosa* UANL-001L mostró un crecimiento robusto en todos los extractos derivados de las cascara, experimentó un crecimiento ligeramente inferior en comparación con el medio YM, especialmente en los medios derivados de cascara de papa y plátano (Figs. 16B y 16F).

En el análisis evolutivo de *R. mucilaginosa* UANL-001L en los distintos extractos (Figs. 16A, 16B, 16C, 16D, 16E, 16F y 16G), observamos un patrón

consistente en sus fases de desarrollo. Nuestra levadura alcanzó su máximo crecimiento durante las primeras 48 h en todos los extractos, seguido de una fase estacionaria que alcanzó su punto máximo a las 72 h. Posteriormente, se apreció una disminución notable en el crecimiento entre las 96 y 120 h de incubación. Las absorbancias máximas alcanzadas por la levadura en los extractos, a una longitud de onda de 600 nm ($DO_{600\text{ nm}}$) fueron: 2.65 en YM, 1.83 en PT, 2.22 en NA, 1.45 en el PP, 2.11 en PT/NA, 1.89 en PT//PP y 2.25 en PT/NA/PP.

Paralelamente a la cinética de crecimiento, la mayor absorción de azúcares reductores en todos los extractos, incluido el YM, se observó entre las 0 y 48 h de inoculación con *R. mucilaginosa* UANL-001L (Figs. 16A, 16B, 16C, 16D, 16E, 16F y 16G). Cabe destacar que el consumo significativo de azúcares continuó hasta las 96 h en los extractos PT, NA, PT/NA y YM (Figs. 16A, 16B, 16C y 16E), después de este tiempo ya no se detectó más consumo de azúcares reductores en ninguno de los extractos.

La tinción Gram facilitó la exploración microscópica del desarrollo morfológico de las células de *R. mucilaginosa* UANL-001L en las distintas fases de crecimiento: Adaptación (0 h) exponencial (24 h), desarrollo (48 h) estacionaria (72 h) y declive (96 y 120 h) en cada uno de los extractos de las cascaras de plátano, papa y naranja y el medio YM (Figura 17). El desarrollo celular en los extractos YM, PT, PP, PT/PP y PT/NA/PP demostró un patrón consistente: aumentando la densidad celular a las 24 h, alcanzando su máximo a las 72 h, seguido de una disminución notable a las 96 h (Figura 17). En contraste, los extractos de NA y PT/NA presentaron concentraciones celulares considerables a las 96 h y su declive a las 120 h (Figura 17), destacando posibles diferencias en la disponibilidad de nutrientes.

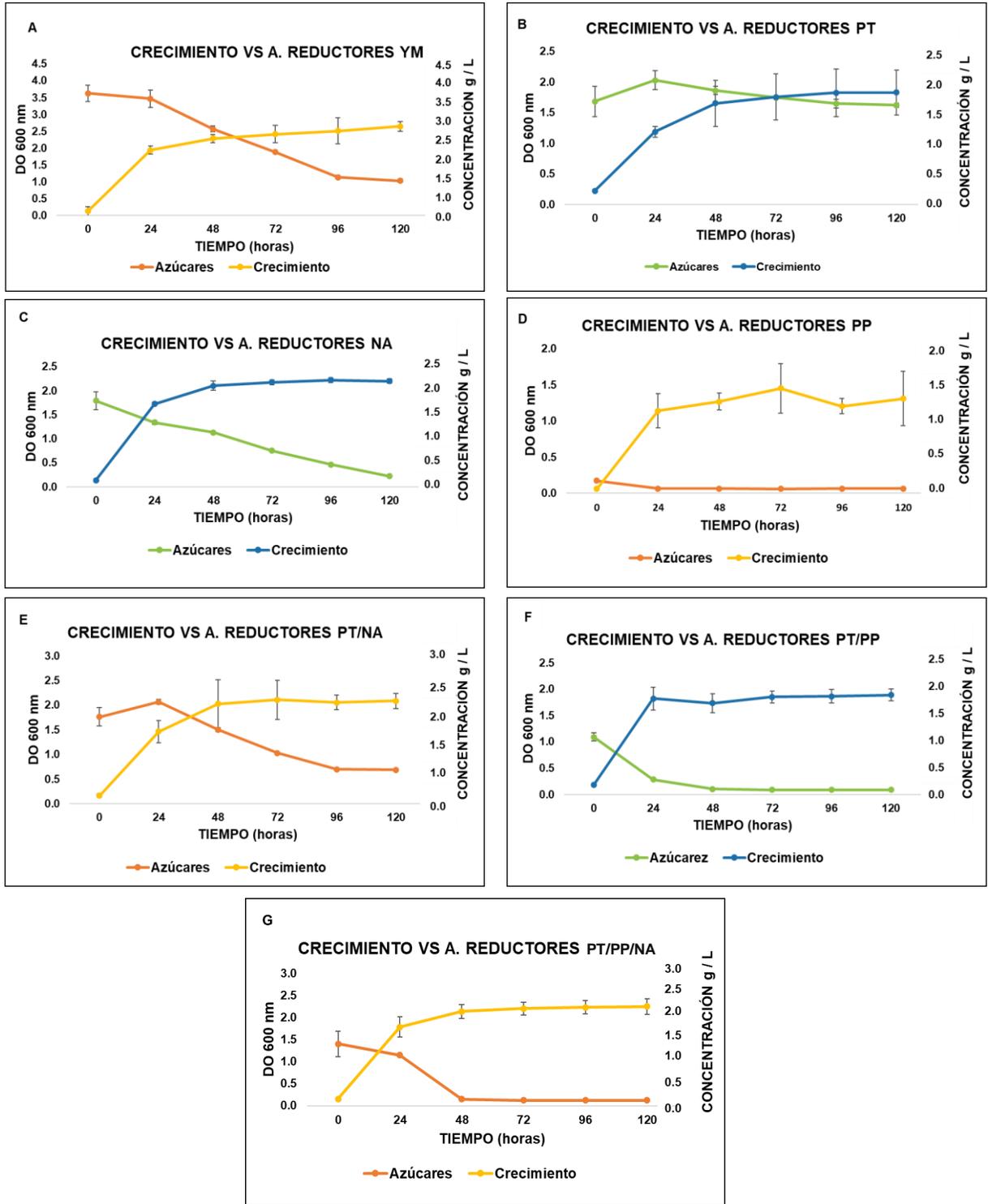


Figura 16. Cinética de crecimiento y consumo de azúcares reductores de *R. mucilaginosa* UANL-001L en los extractos: (A) Medio YM; (B) Extracto PT; (C) Extracto NA; (D) Extracto PP; (E) Extracto PT/NA; (F) Extracto PT/PP; (G) Extracto PT/NA/PP.

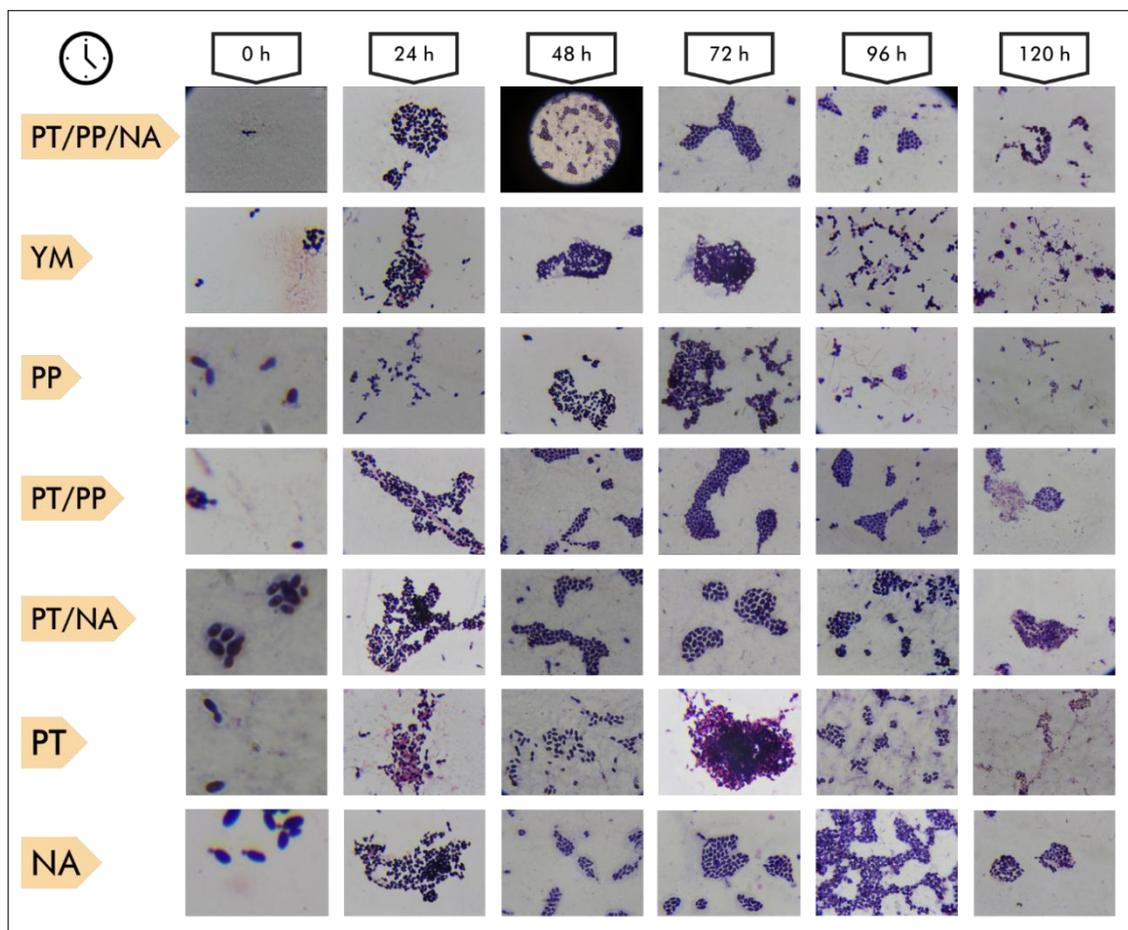


Figura 17. Evolución celular de *R. mucilaginosa* UANL-001L en los extractos PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP y el medio YM, en sus distintas fases de crecimiento durante 120 horas.

5.5. Producción y caracterización elemental de la biomasa de *R. mucilaginosa* UANL-001L.

La biomasa producida por *R. mucilaginosa* UANL-001L, después de 96 h de incubación en los extractos combinados de plátano/naranja (PT/NA), plátano/papa (PT/PP) y plátano/naranja/papa (PT/NA/PP), fue de 2.05, 1.42 y 2.14 g/L respectivamente. Obtenido el mayor rendimiento de biomasa con el extracto PT/NA/PP, con una concentración de 2.14 g/L, aunque la única diferencia significativa en la producción de biomasa se presentó en el medio PT/PP, que mostró el menor crecimiento de los tres (Figura 18).

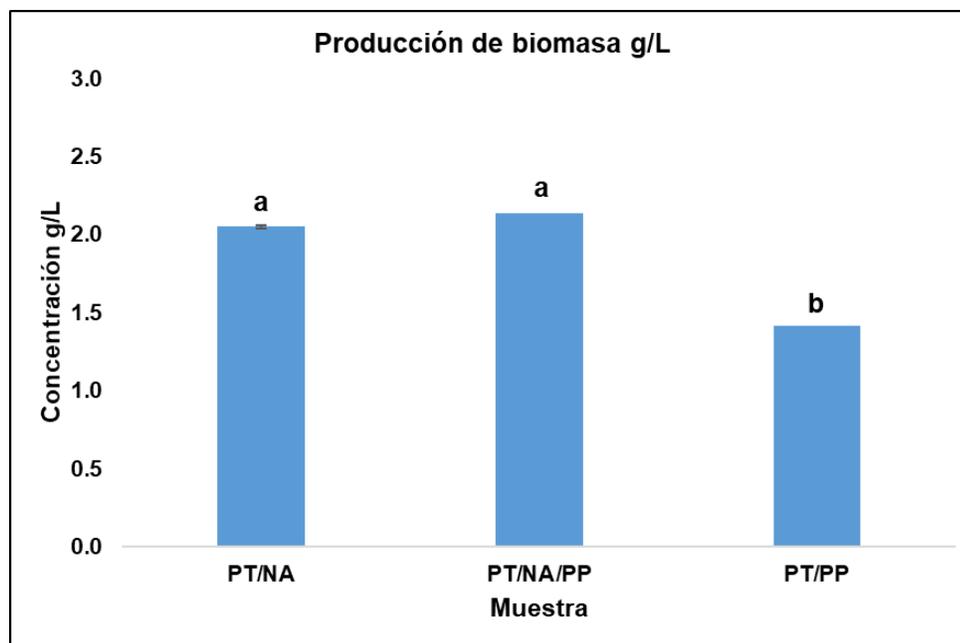


Figura 18. Producción de biomasa de *R. mucilaginosa* UANL-001L en los extractos PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP (g/L). Letras distintas indican diferencias significativas $P < 0.05$.

En la composición elemental CHNS (carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre) de la biomasa seca de *R. mucilaginosa* UANL-001L (Figura 19), se registró diferencias significativas en el contenido de carbono, con el extracto PT/NA presentando la mayor concentración (52 %), seguido de PT/NA/PP (49 %) y PT/PP (43 %). Para el hidrógeno, solo el medio PT/NA presentó un valor significativamente más alto (8 %), mientras que los extractos PT/PP (7 %) y PT/NA/PP (8 %), no mostraron diferencias significativas entre ellos. El contenido de nitrógeno también varió entre los medios, siendo mayor en PT/PP (6 %), seguido de PT/NA/PP (3 %) y PT/NA (2.5 %). Por último, no se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones de azufre (0.25, 0.28 y 0.36 %) de los extractos evaluados (Figura 19).

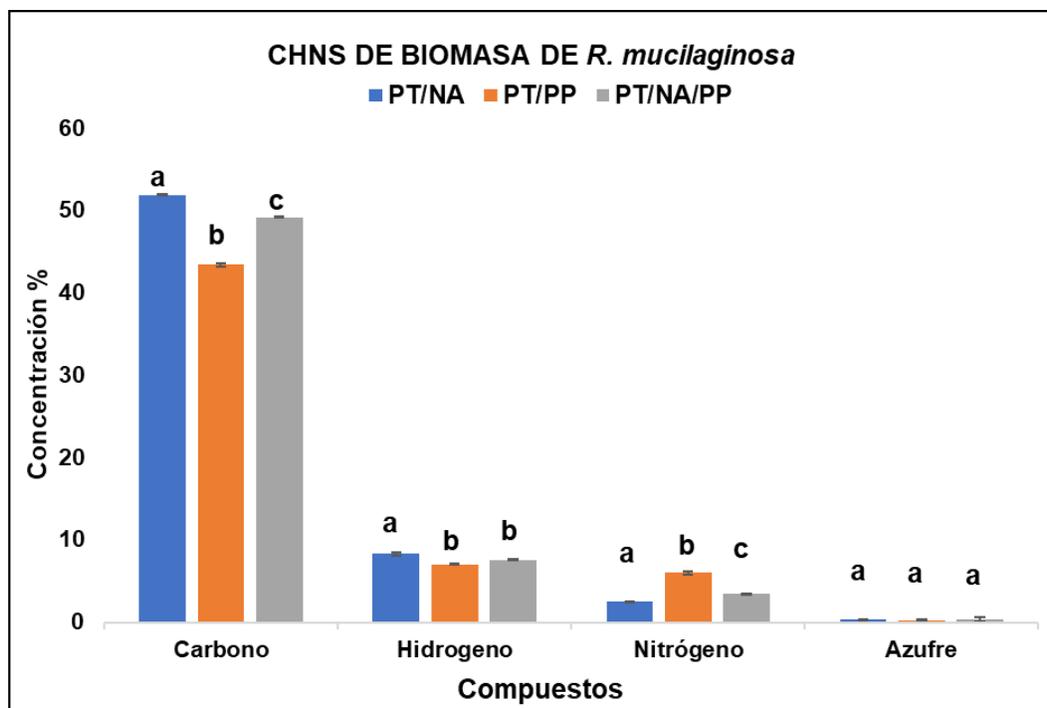


Figura 19. Análisis elemental CHNS de la biomasa de *R. mucilaginosa* de los extractos combinados. Letras distintas indican diferencias significativas $P < 0.05$.

5.6. Monosacáridos en los extractos PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP, a las 96 h de incubación.

La evaluación de monosacáridos disponibles en los medios combinados PT/PP, PT/NA y PT/NA/PP, después de 96 h de incubación con *R. mucilaginosa* UANL-001L, mostró la presencia de maltosa como el único azúcar detectado en los tres medios (279, 332 y 308 g/L respectivamente) y en concentraciones similares. Se observó también la presencia de fructosa únicamente en el medio PT/NA, con una concentración de 1500 mg/L (Tabla 9). Estos resultados fueron obtenidos mediante la técnica de detección de cromatografía líquida (HPLC).

Tabla 9. Monosacáridos disponibles en los extractos de PT/PP, PT/NA y PT/NA/PP después de 96 h de incubación.

Monosacárido	Tiempo de retención (min)	PT/PP	PT/NA	PT/NA/PP
Maltosa	11.8	279 mg/ L	332 mg/ L	308 mg/ L
Glucosa	13.8	ND	ND	ND
Xilosa	14.7	ND	ND	ND
Arabinosa	16.39	ND	ND	ND
Fructosa	17.4	ND	1500 mg/L	ND
Manitol	25	ND	ND	ND
Sorbitol	33.85	ND	ND	ND

5.7. Producción de carotenoides de la biomasa de *R. mucilaginosa* UANL-001L de los extractos.

En la figura 20 se muestra la producción de carotenoides, tanto en térmicos volumétricos (mg/L) como en celulares ($\mu\text{g/g}$ de levadura seca) de la biomasa de *R. mucilaginosa* UANL-001L cultivada con los extractos de cascara de plátano (PT), naranja (NA), papa (PP) y sus combinaciones (PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP), comparado al medio YM. La mayor producción de carotenoides por gramo de levadura seca y volumétricos se consiguió con el medio YM 23.1 $\mu\text{g/g}$ y 5.7 mg/L respectivamente. Seguido del extracto NA (21.9 $\mu\text{g/g}$ y 5.5 mg/L) con el mayor rendimiento de todos los extractos de residuos. Las combinaciones PT/NA, PT/NA/PP, PT/PP y el PT obtuvieron valores intermedios de producción entre 12.1 y 16.4 $\mu\text{g/g}$ para celulares y 3.0 y 4.1 mg/L carotenoides volumétricos. Mientras que, los valores más bajos de carotenoides totales se reportaron con el extracto de cáscara de papa (PP) con 5.5 $\mu\text{g/g}$ y 1.4 mg/L (Figura 20).

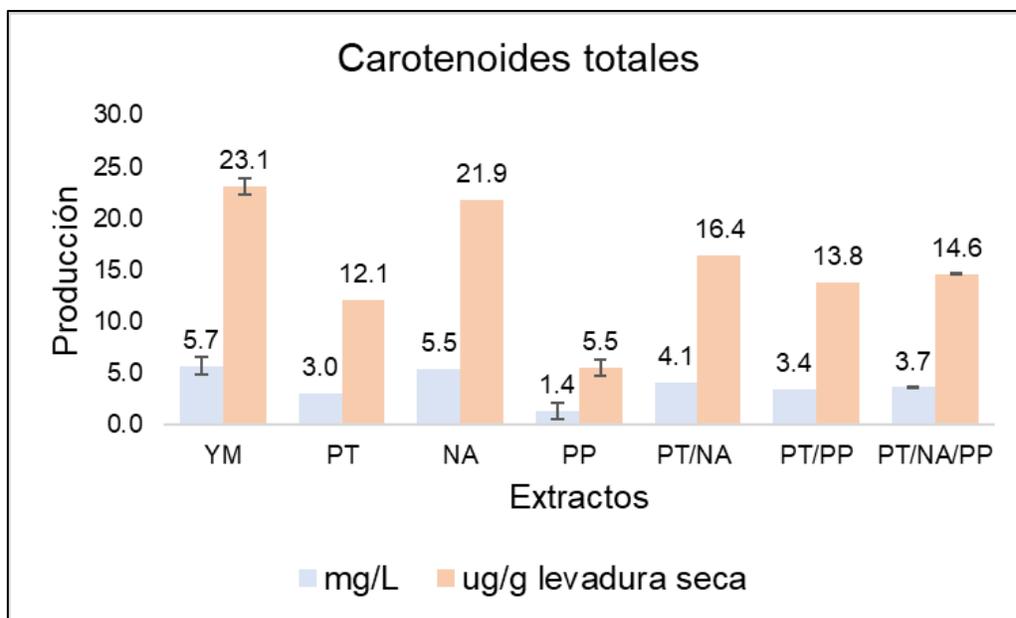


Figura 20: Producción de carotenoides totales de la biomasa de *R. mucilaginosa* UANL-001L al término de su crecimiento en los extractos de las cascaras de plátano, papa y naranja y el medio YM. Expresados en mg/L (carotenoides volumétricos) y $\mu\text{g/g}$ de levadura seca (microgramos de carotenoides por gramo de células secas).

La composición de los carotenoides sintetizados por *R. mucilaginosa* UANL-001L, se determinó con barridos espectrofotométricos de los carotenoides extraídos de la biomasa cultivada con los extractos de las cascaras de plátano, papa y naranja y sus combinaciones, comparado al medio YM, en un rango de longitud de onda de 200 a 600 nm (Figura 21). En los espectros resultantes (Figs. 21A, 21B, 21C, 21D, 21E, 21F y 21G) se pueden apreciar picos promitentes en el rango de medición de 200 a 300 nm, lo que sugiere la presencia de precursores como polienos y otros compuestos. Además, todos los espectros muestran un pico claro y similar que va desde los 450 hasta los 550 nm, característico de la presencia de carotenoides, confirmando la síntesis por *R. mucilaginosa* UANL-001L. Este pico se observa con mayor intensidad en los carotenoides de los extractos PT, PT/NA y PT/PP (Figs. 21B, 21E y 21F).

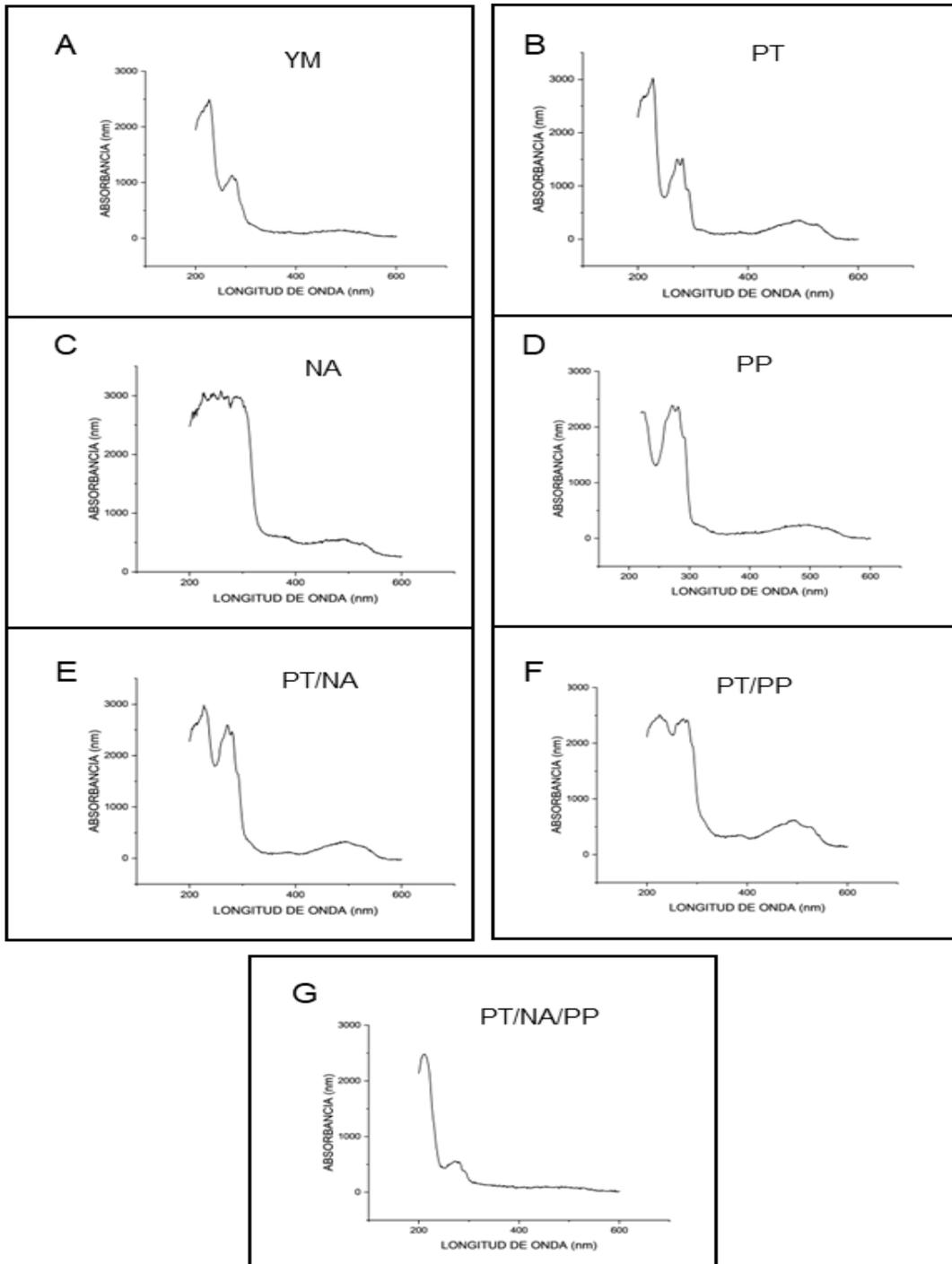


Figura 21: Espectros de los carotenoides de la biomasa de *R. mucilaginosa* UANL-001L cultivada en los extractos de residuos y en YM, a un rango de longitud de onda de 200 a 600 nm. A) Espectro de YM, B) Espectro de PT, C) Espectro de NA, D) Espectro del PP, E) Espectro de PT/NA, F) Espectro de PT/PP y G) Espectro de PT/NA/PP.

La morfología superficial y estructural de la biomasa de *R. mucilaginosa* UANL-001L, utilizada para la extracción de carotenoides, fue evaluada mediante

microscopía electrónica de barrido (SEM). Las microscopías revelan que, tanto en los extractos a base de residuos: PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP como en el medio YM, las células de la levadura presentan su morfología típica: blastoconidios esferoidales a ovalados (Figura 22). En las imágenes con magnificación de 100x, se observó una mayor densidad de partículas en los extractos de residuos en comparación con el YM, destacando las muestras de cascaras de plátano (PT) y papa (PP) por tener partículas más finas y ramificadas. Las muestras de cáscara de naranja (NA), por otro lado, exhiben partículas más grandes y con una apariencia rocosa. A una mayor magnificación (1 KX), los extractos de NA, PP y PT/NA/PP muestran una morfología con una estructura más aglomerada y aspectos rocosos, lo que sugiere diferencias en la formación y compactación celular. En contraste, los medios YM, PT, PT/NA, y PT/PP mostraron estructuras más ramificadas y con menor aglomeración, lo que permite una mayor visualización de las células individuales (Figura 22). Finalmente, en las imágenes con magnificación de 5 KX, se observa la morfología característica de *R. mucilaginosa* UANL-001L en todos los extractos, con diferencias notables en los extractos de PT y NA, que presentan porosidad y posibles signos de ruptura celular, mientras que el extracto PP muestra células más pequeñas comparado al resto de extractos (Figura 22).

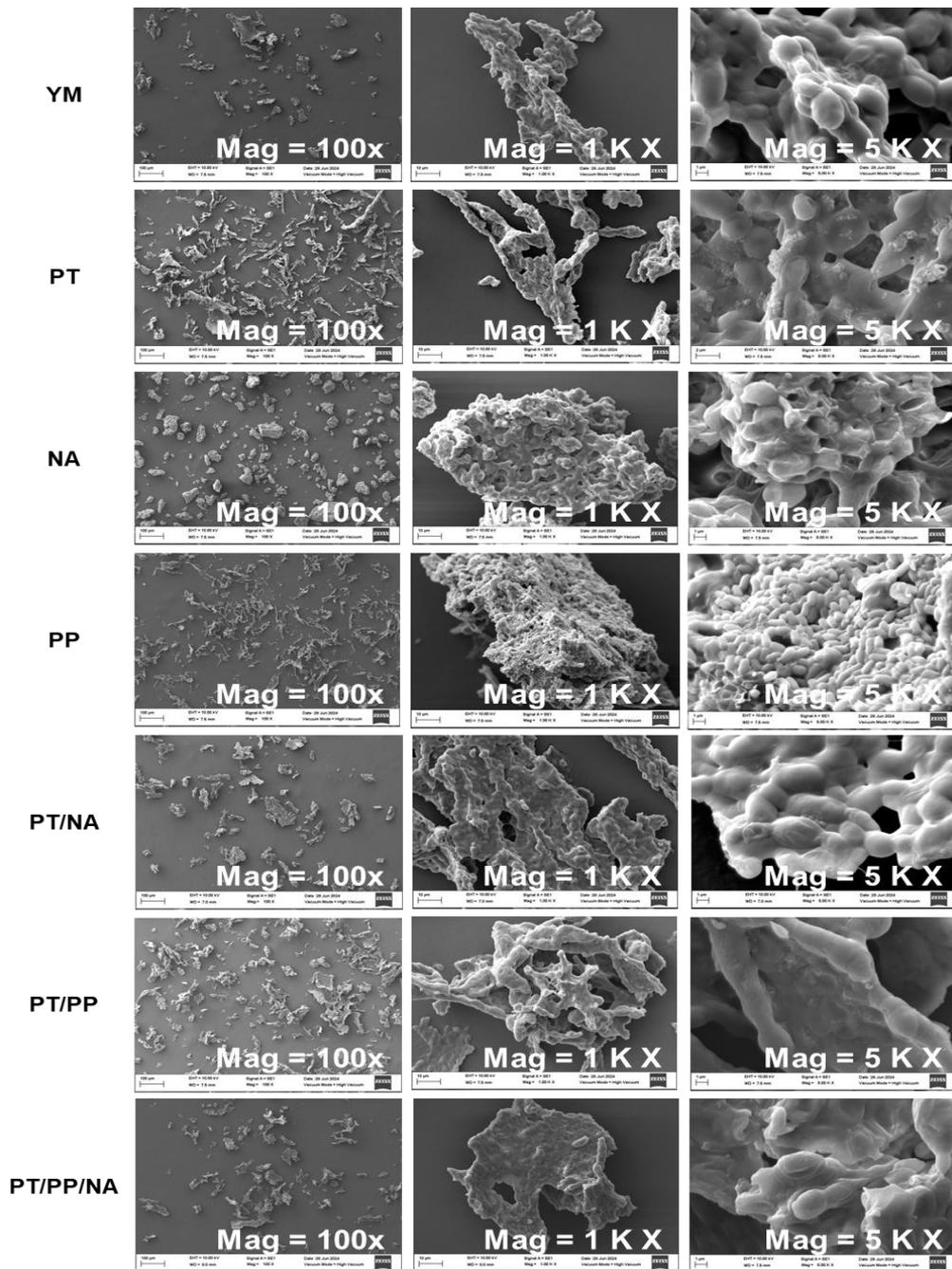


Figura 22. Microscopías SEM de la biomasa de *R. mucilaginosa* UANL-001, cultivada en los extractos de PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP, comparado al medio YM, después de 96 h de crecimiento. Tomadas a tres magnificaciones Mag: 100x, 1 KX y 5 KX.

5.8. Producción de EPS a partir de los extractos combinados PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP.

La Figura 23 presenta la producción de exopolisacáridos (EPS) de los extractos combinados PT/PP, PT/NA y PT/PP/NA a distintas concentraciones y

condiciones de inoculación (100 g/L, 100 g/L + 3 mL de inóculo, 100 g/L + 120 h de incubación y 200 g/L). Observado que en general, la producción de EPS fue mayor en las concentraciones de 100 g/L, y a 200 g/L en los tres grupos, en contraste la producción más baja de EPS se reportó con la condición de 100 g/L + 120 h de incubación (Figura 23). La mejor producción de EPS se logró con la combinación PT/PP/NA a 200 g/L (476 mg/L), seguido de PT/NA a 100 g/L (470 mg/L). Además, no se observó diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos con mayor producción de EPS, pero si hubo diferencias significativas ($P < 0.05$) contra los otros tratamientos evaluados (Figura 23).

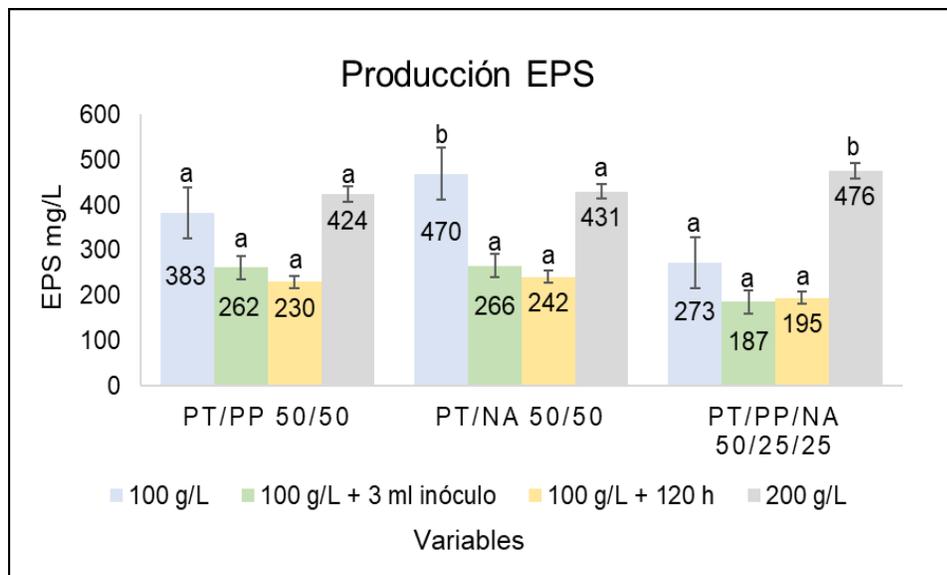


Figura 23: Producción de EPS de los extractos PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP a distintas concentraciones y variables. Letras distintas indican diferencias significativas con $P < 0.05$.

El rendimiento en la producción de EPS de los extractos combinados (PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP) expuestos a diferentes concentraciones y variables de incubación. Demostró que los tres extractos PT/NA (50/50), PT/PP (50/50) y PT/PP/NA (50/25/25) a la concentración de 100 g/L reportaron los mayores rendimientos de EPS 15 %, 12 % y 9 %, respectivamente (Figura 24).

Se realizó una extracción individual de EPS de las cascara de plátano, papa y naranja y del medio YM como control, a la concentración seleccionada para continuar este estudio (100 g/L). Encontrando que los extractos de cáscara

de plátano (PT) y papa (PP) obtuvieron producciones de EPS (378 y 387 mg/L) comparables al medio YM (379 mg/L), mientras que, el extracto de cáscara de naranja (NA) duplicó el valor de producción del YM con 911 mg/L (Figura 25). Basado en estos resultados, se decidió continuar este estudio de producción de EPS y la caracterización con los 6 extractos de las cascarras de plátano, papa y naranja y el medio YM.

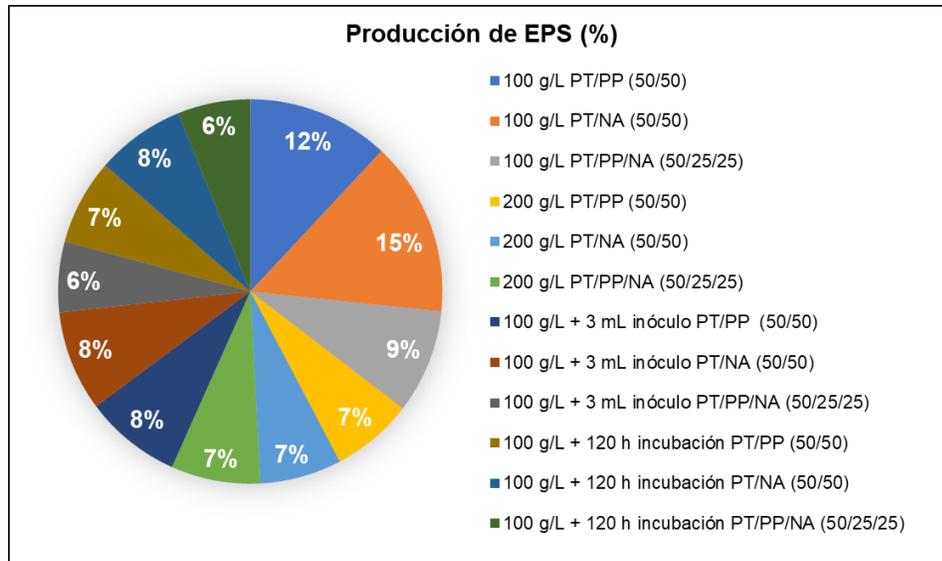


Figura 24: Rendimiento de los EPS de los extractos combinados PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP a distintas concentraciones y variables.

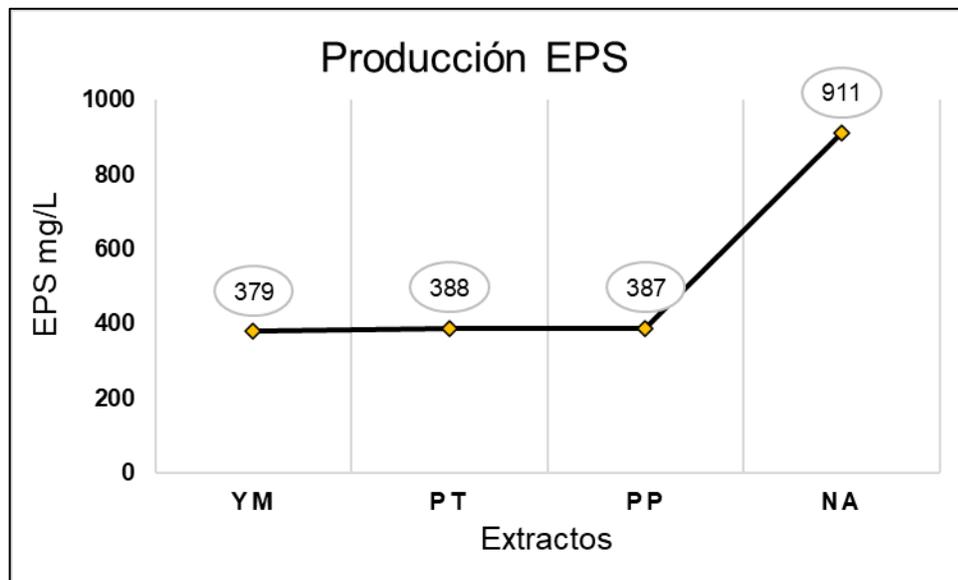


Figura 25: Producción de EPS de las cascarras de plátano, papa, naranja y del medio YM.

La producción de EPS resultante de todos los extractos individuales (PT, NA y PP) y combinados (PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP) y del medio YM, confirmaron que el extracto a base de cáscara de naranja (NA) favorece a la síntesis de EPS, reportando la mayor producción con 860 mg/L, superando significativamente ($P < 0.05$) a los otros extractos evaluados (Figura 26). Así también, el YM alcanzó 416 mg/L de EPS, mientras que los extractos PT, PP y sus combinaciones PT/NA y PT/PP, obtuvieron valores en un rango entre 358 mg/L y 469 mg/L, sin diferencias significativas entre ellos ($P > 0.05$). Por último, el extracto combinado de plátano, papa y naranja (PT/PP/NA) mostró la menor producción de EPS, con 273 mg/L, a pesar de su alto contenido de sólidos totales (Figura 26).

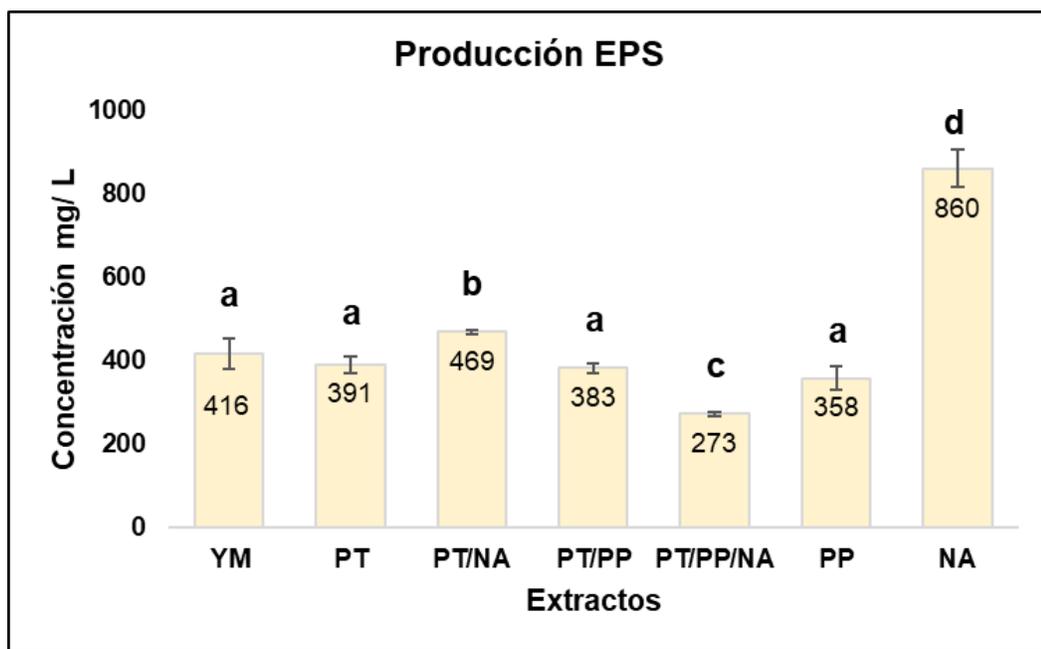


Figura 26. Producción de EPS de las cáscaras de plátano, papa y naranja individuales y combinadas y del medio YM. Letras distintas indican diferencias significativas $P < 0.05$.

5.9. Caracterización morfológica de los EPS.

La Figura 27 presentan las microscopías de los EPS sintetizados a partir de los extractos de las cáscaras de plátano, papa y naranja. En el extracto PT a la magnificación de 50x, las partículas muestran una estructura irregular con fragmentos grandes y agudos, mientras que a 200x se observan superficies más

lisas con bordes definidos. La magnificación más alta (1 KX) revela una textura uniforme con algunos puntos dispersos (Figura 27). Para el extracto NA las imágenes revelan fragmentos más grandes y uniformes a 30x y 200x comparado al PT y al aumentar la magnificación a 1 KX, se observan superficies más lisas con mínimas irregularidades. En el caso del EPS del PP, se observa una textura más desorganizada y fragmentada, especialmente a 50x y a mayor aumento (200x y 1 KX), las superficies parecen más quebradizas con bordes menos definidos que en NA y PT. El EPS de PT/NA presentó partículas con una morfología similar a las de NA, pero con fragmentos más pequeños y distribuidos uniformemente a 50x y 200x, exhibiendo mayor uniformidad de las partículas al aumentar la magnificación a 1 KX (Figura 27). Por su parte, el EPS de PT/PP a 30x y 200x, mostró partículas de tamaño intermedio, con superficies rugosas similar al PP, y a medida que aumentó las magnificaciones (1 KX) se observa mayor rugosidad superficial y menor homogeneidad de las partículas. Adicionalmente, en las micrografías del EPS PT/NA/PP se puede apreciar una mezcla de las características morfológicas observadas en los EPS anteriores, con superficies que poseen tanto áreas lisas como fragmentadas a 50x y 200x. Revelando texturas variadas con estructuras más finas y mayor aglomeración de partículas a 1 KX (Figura 27).

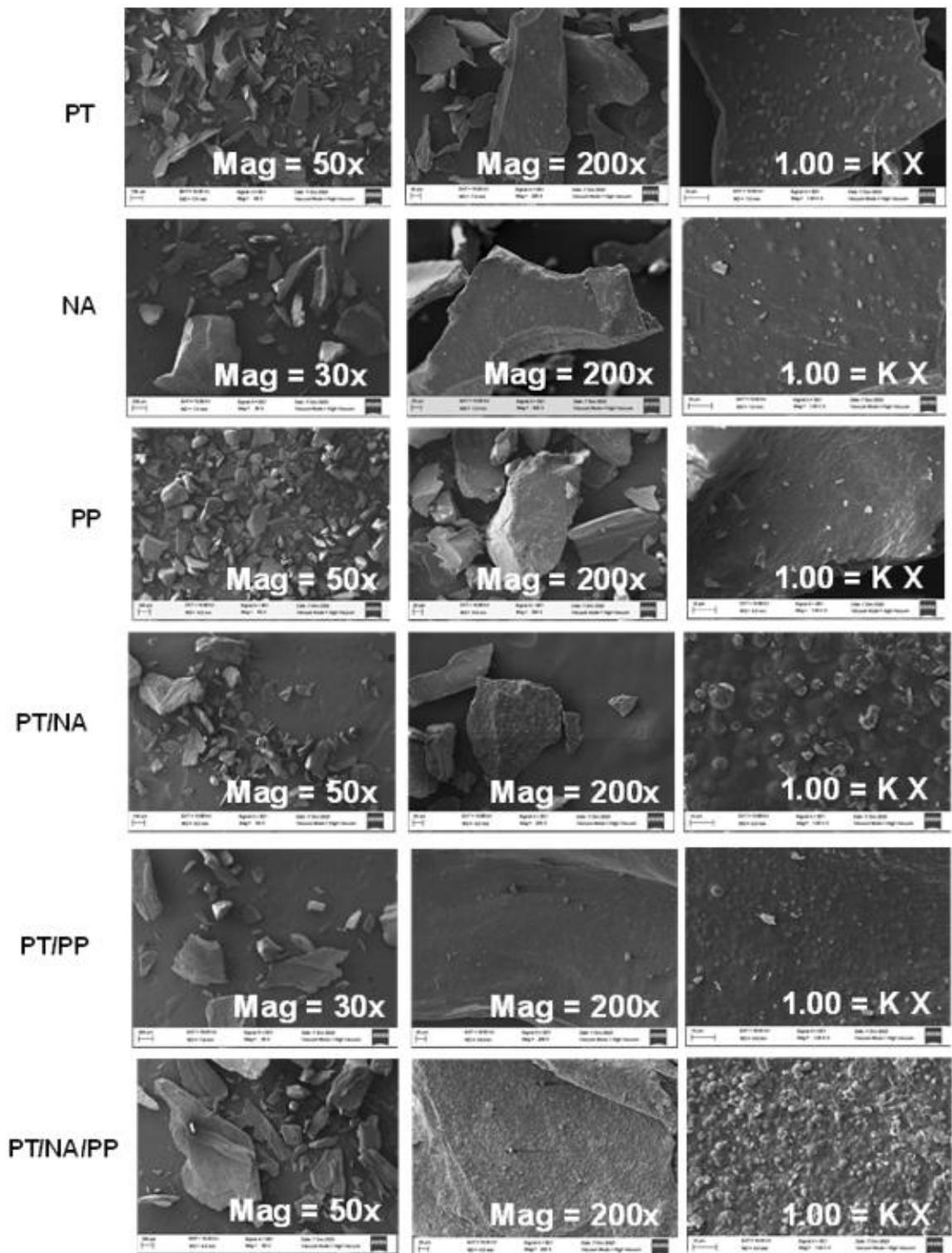


Figura 27. Microscopías SEM de la morfología superficial de los EPS de los extractos PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP. Tomadas a las magnificaciones Mag: 30x, 50X, 200x y 1 KX.

5.10. Grupos funcionales de los EPS.

Los EPS obtenidos de los extractos de las cascaras de plátano, papa, naranja y del YM fueron analizados mediante espectroscopía infrarroja (FTIR) para evaluar la presencia de grupos funcionales. En la Figura 28 se puede observar que todos los EPS (YM, PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP) presentaron grupos funcionales similares como hidroxilos (O-H), carbonilos (C=O), y enlaces (C-O) del grupo metilo, propios de los polisacáridos. El medio YM presentó bandas características de los grupos hidroxilo (O-H, $3600-3200\text{ cm}^{-1}$), metilo-(C-O, 2900 cm^{-1}), grupos enol y amino ($650-1540\text{ cm}^{-1}$), carboxilo (C=O, 1350 cm^{-1}), alqueno (C=C, 1250 cm^{-1}) y el pico $1000-1200\text{ cm}^{-1}$ de los grupos C-O, C-C, C-O-C y C-O-H. Del mismo modo, El EPS PT en su espectro registró regiones de estiramiento de $3600-3000\text{ cm}^{-1}$, 2924 cm^{-1} , 1734 cm^{-1} , $1637-1350\text{ cm}^{-1}$, $1150-1000\text{ cm}^{-1}$ y $1000-500\text{ cm}^{-1}$, correspondientes a los grupos funcionales O-H, C-H, C=O, C=C, C-O-C, C-O-H y Si-O (Figura 28).

El EPS NA mostró estiramientos típicos de un polisacárido con picos poco pronunciados en la región de $3650-3000\text{ cm}^{-1}$ y 1900 cm^{-1} (H-O y C-H), estiramientos en la región $1637-1350\text{ cm}^{-1}$ de los compuestos aromáticos y un pico muy pronunciado en la zona $1150-1000\text{ cm}^{-1}$ de los grupos C-O-C y C-O-H (Figura 28). Mientras que, el EPS PP reportó bandas más leves que el EPS NA en las regiones de los grupos O-H y C-H ($3650-3000$ y 1900 cm^{-1}), picos más pronunciados para los grupos amino y carboxilo ($1600-1250\text{ cm}^{-1}$), y su pico más grande en el área de los grupos C-O-C y C-O-H característica propia este sustrato (Figura 28). En cuanto a la estructura de los EPS combinados PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP, se observaron los mismos grupos funcionales y anillos aromáticos presentes en el EPS de cáscara de plátano (PT), pero con un mayor pronunciamiento principalmente del EPS PT/NA/PP. Los estiramientos registrados fueron $3700-3000\text{ cm}^{-1}$ (O-H), 2924 cm^{-1} (C-H), anillos aromáticos (C=O) 1734 cm^{-1} , $1637-1350\text{ cm}^{-1}$, grupos C-O-C y C-O-H $1150-1000\text{ cm}^{-1}$ y la banda del oxido de silicio (Si-O) $1000-500\text{ cm}^{-1}$ (Figura 28).

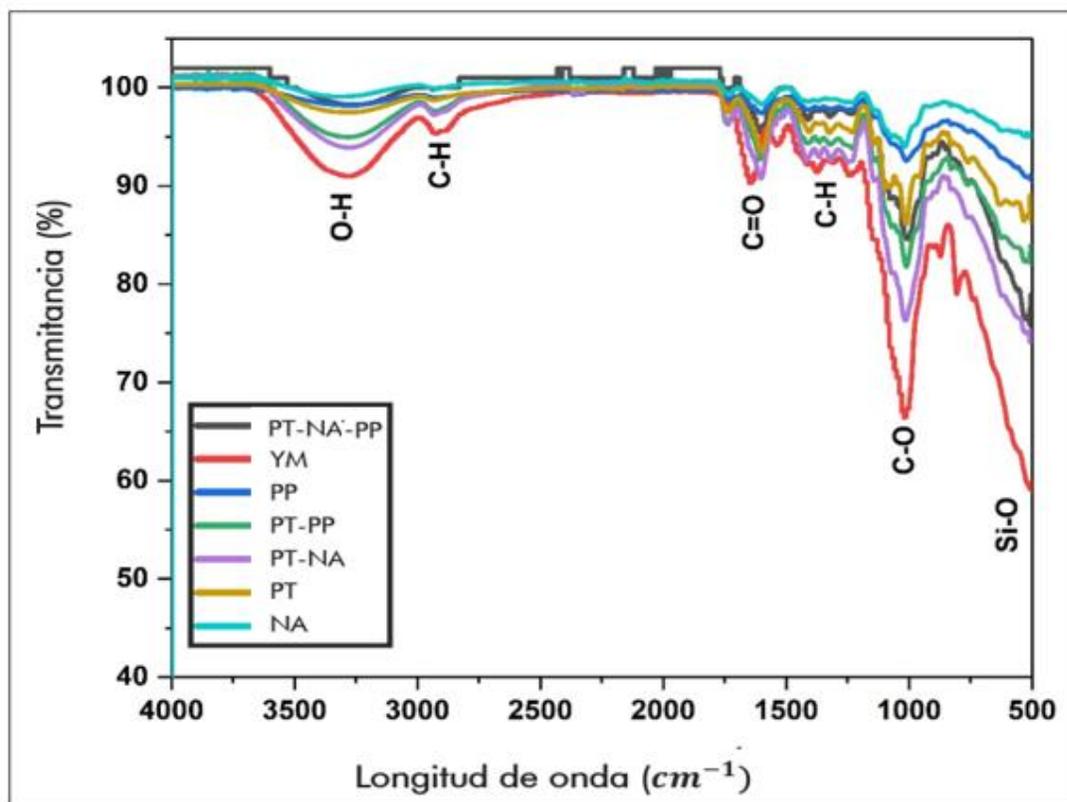


Figura 28. Espectros FTIR de los grupos funcionales presentes en los EPS obtenidos de los extractos PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP, PT/NA/PP y del YM.

5.11. Análisis elemental de los EPS.

La Figura 29 muestra la composición elemental (CHNS) de los EPS resultantes de los extractos de las cascaras de plátano, papa, naranja, sus combinaciones y del medio YM. Observando que todas las muestras de EPS reportaron concentraciones altas de carbono (C), siendo el EPS del PP (40.67 %) el que tuvo el valor más alto, seguido de YM (39.06 %). Los EPS de NA, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP, registraron concentraciones de carbono entre 33.00 y 36.05 %, mientras que el EPS de PT tuvo la concentración más baja (32.52 %). Sin embargo, no existió diferencias significativas en el contenido de carbono (C) de todas las muestras ($P > 0.05$). Los valores de hidrógeno (H) registrados oscilaron entre 1.58 % y 6.42 % siendo el más bajo del EPS del PP y el más alto de YM. Solo el contenido de hidrógeno del PP fue distinto significativamente al contenido de las demás muestras ($P < 0.05$) y las concentraciones más altas

fueron de los EPS de YM y NA (Figura 29). Las concentraciones de nitrógeno comparado al carbono e hidrógeno fueron más bajas en todos los EPS con el valor más alto en YM (3.58 %) y el más bajo en PT (0.44 %). Este último también fue el único diferente significativamente a las demás muestras ($P < 0.05$). Finalmente, No se detectó azufre (S) en ninguna de las muestras evaluadas, lo que indica la ausencia de este elemento en los EPS de los residuos agroindustriales y el YM (Figura 29).

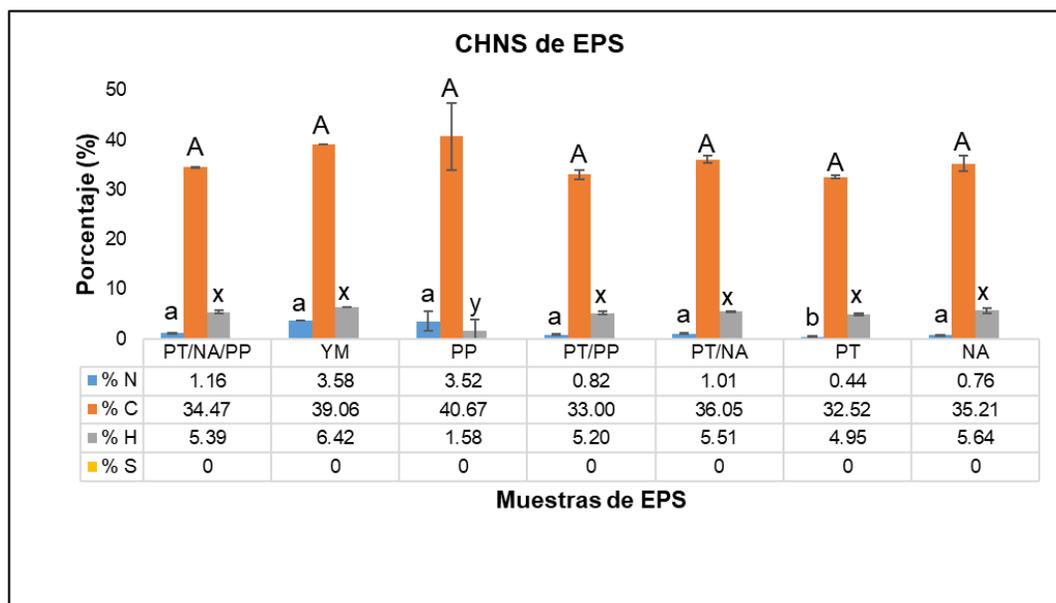


Figura 29. Caracterización elemental CHNS de los EPS de los extractos PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP, PT/NA/PP y del medio YM. Letras distintas indican diferencias significativas $P < 0.05$.

5.12. Presencia y composición de monosacáridos en los EPS.

La presencia y composición de monosacáridos en los EPS derivados de las cascarras de plátano, papa y naranja y del YM, se detectó mediante un análisis de HPLC. Observando la presencia de la fucosa y la galactosa en todos los EPS con valores similares y constantes entre 1.31 y 1.48 mg/L para fucosa y 0.79 y 1.43 para galactosa. Los EPS con mayor contenido de fucosa y galactosa fueron el PP y el PT/NA, mientras que los EPS PT/PP y NA presentaron los valores más bajos (Tabla 10). El EPS PT no reportó fructosa en su composición, y la muestra con el menor contenido de este monosacárido fue el YM (0.07 mg/L), las demás

muestras como PP (0.18 mg/L), NA (0.83 mg/L), PT/NA (0.29 mg/L) y PT/NA/PP (0.38 mg/L) registraron concentraciones más altas de fructosa, pero no sobrepasaron 1 mg/L (Tabla 10). El ácido galacturónico fue otro monosacárido de mayor presencia en nuestros EPS a excepción de las muestras NA y PT/NA/PP (Tabla 10). El valor más alto de este compuesto se reportó en la muestra PT/PP (1.79 mg/L) y el menor valor en PT/NA (0.48 mg/L).

Así también, la maltosa se detectó solo en las muestras combinadas PT/PP (1.73 mg/L) y PT/NA/PP (1.74 mg/L). Al igual que, la glucosa se observó únicamente en los EPS del PP (2.6 mg/L) y en menor cantidad en PT/PP (0.88 mg/L). La Xilosa, Arabinosa, Manosa y Manitol no fueron detectadas en ninguno de los EPS, mientras que el Sorbitol solo se encontró en los EPS de YM y PP con valores de 0.25 y 0.28 mg/L respectivamente (Tabla 10).

Tabla 10. Presencia de monosacáridos en los EPS

Compuesto	Monosacáridos presentes en los EPS mg/L							
	T. Retención (min)	YM	PT	NA	PP	PT/NA	PT/PP	PT/NA/PP
Maltosa	8.83	NA	NA	NA	NA	NA	1.73	1.74
Glucosa	13.75	NA	NA	NA	2.6	NA	0.88	NA
Xilosa	14.33	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Arabinosa	16.39	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Fructosa	11.02	0.07	NA	0.83	0.18	0.29	0.21	0.38
Manitol	25	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Sorbitol	17.13	0.25	NA	NA	0.28	NA	NA	NA
Ácido Galacturónico	9.98	0.51	0.52	NA	0.85	0.48	1.79	NA
Fucosa	16.99	1.4	1.42	1.4	1.48	1.41	1.31	1.34
Galactosa	15.34	1.22	1.33	0.76	1.11	1.43	0.91	1.02
Manosa	15.9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

5.13. Peso molecular de los EPS.

Los pesos moleculares de los EPS de los extractos de cascara de plátano, papa, naranja y sus combinaciones comparado al medio YM, se muestran en la Figura 30. En la Figura 30 A, se pueden observar los distintos

pesos moleculares de los EPS evaluados frente al patrón de pululanos usado como referencia, pudiendo apreciar que los tiempos de retención del peso molecular de los EPS evaluados fueron menores al tiempo de detección de los polímeros de referencia. Además, en la figura 30B, se puede apreciar de mejor manera los espectros de los pesos moleculares los EPS, observando un pico de mayor intensidad en todos los EPS entre el tiempo de retención de 12 a 14 minutos, correspondiendo estos tiempos a los valores de 76.14 y 78.85 kDa.

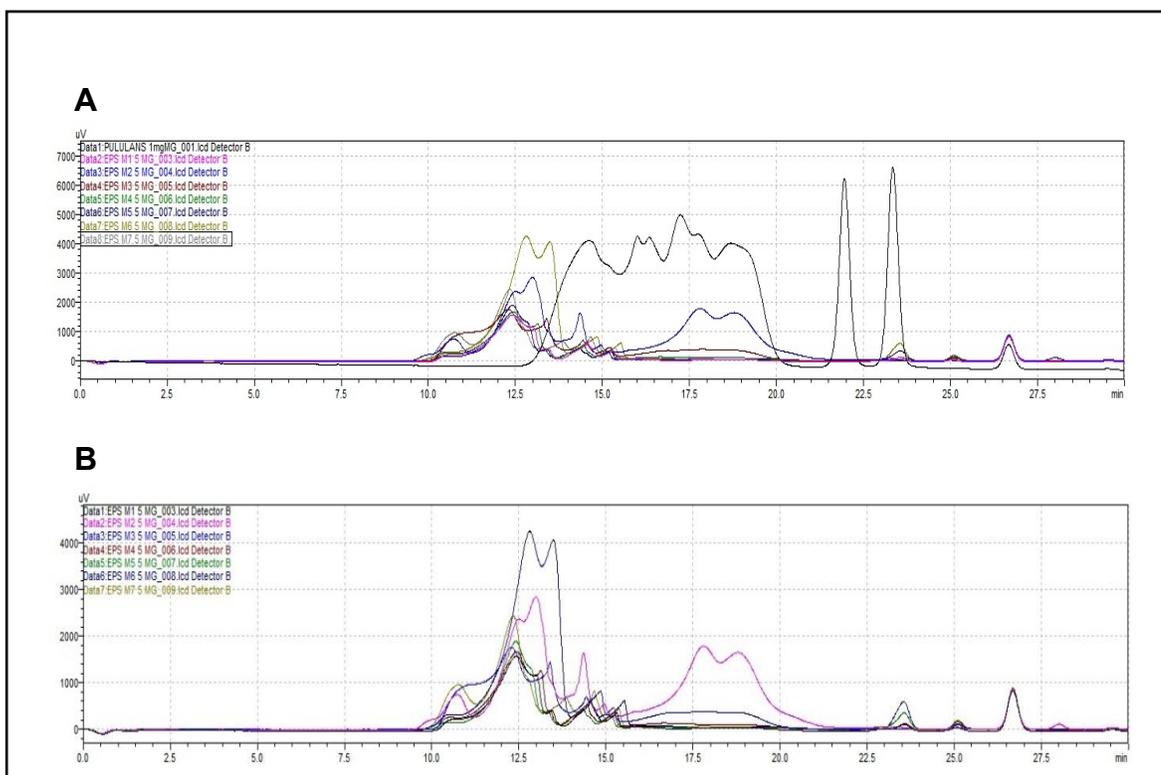


Figura 30. Cromatogramas del peso molecular de los EPS de las cascaras de plátano, papa, naranja y del YM frente al estándar de pululanos.

5.14. Tamaño de partícula de los EPS.

El análisis del tamaño de partícula de los EPS mediante el ZETASIZER NANO, permitió conocer adicional al tamaño (nm), la distribución normal e intensidad de las partículas en los EPS (Figs. 31A y 31 B). El EPS combinado PT/PP reportó el mayor tamaño de partícula de todas las muestras alcanzando los 665 nm. Mientras que, el EPS de NA obtuvo el tamaño de partícula más

pequeño (175 nm) y acompañado de una curva de distribución más simétrica indicando una dispersión de datos más homogénea en la muestra (Figs. 31A y 31B). El EPS de PT se observa una distribución de datos normal, pero con mayor rango de salida y una intensidad más pronunciada arriba de los 500 nm, siendo el segundo tamaño de partícula más grande con 529 nm. En el caso de los EPS de YM, PP, PT/NA y PT/NA/PP reportaron tamaños de partícula intermedios entre 198 y 323 nm y con distribuciones más irregulares, indicando la presencia de una mayor diversidad de partículas en estas muestras (Figs. 31A y 31B).

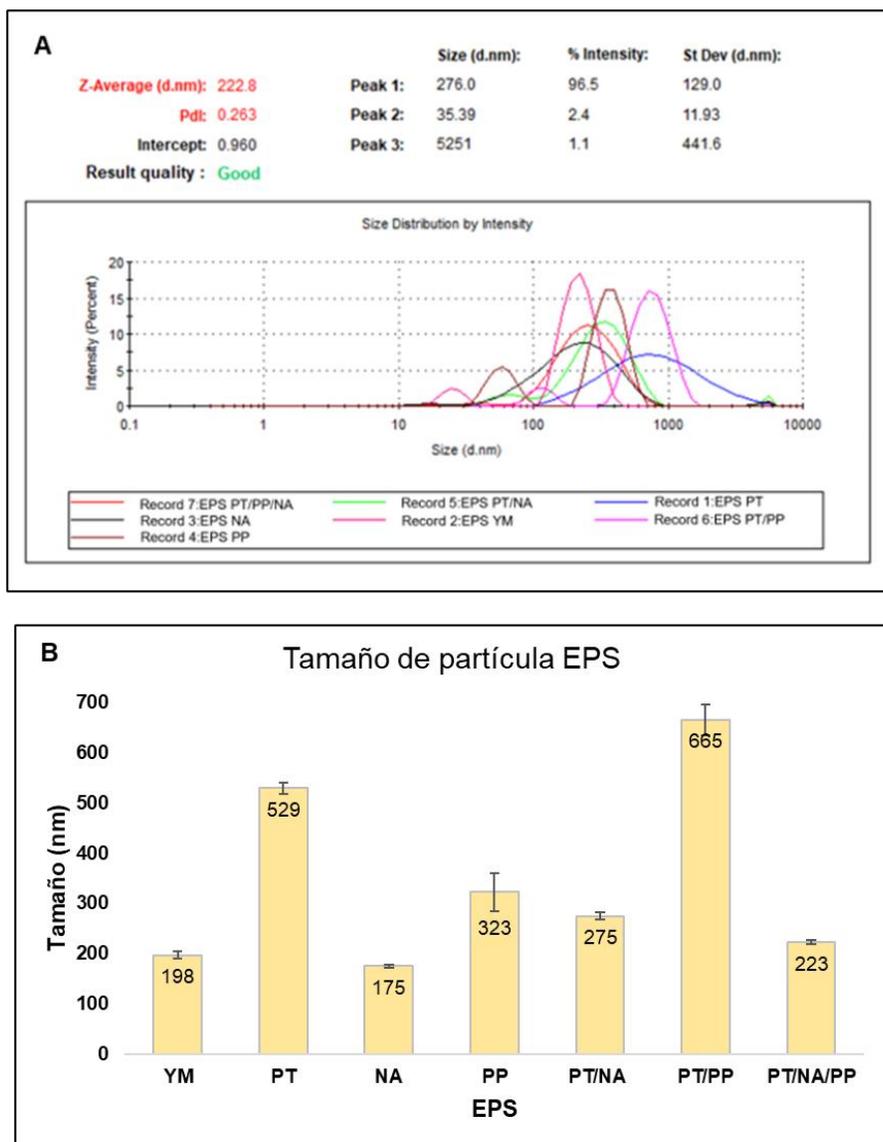


Figura 31. Tamaño de partículas de los EPS de las cascaras de plátano, papa, naranja y del YM.

5.15. Aminoácidos libres en la estructura de los EPS.

La Figura 32 indica la presencia de aminoácidos libres en los distintos EPS de los residuos agroindustriales y el YM, detectado por el método FAN. Donde se puede observar que la concentración de aminoácidos libres en los EPS osciló entre 0.47 y 1.25 mg/g de muestra, siendo el valor más alto del YM y el más bajo del PT (Figura 32). El EPS PP reportó el segundo valor más alto de aminoácidos y el más grande de los EPS de las cascaras con 1.14 mg/g. Seguido del PT/NA/PP que registró 1.07 mg/g de EPS (Figura 32). Finalmente, los EPS PT, NA, PT/NA y PT/PP registraron valores de aminoácidos menores a 1 mg/g de muestra, sugiriendo un bajo contenido de proteínas en estos EPS (Figura 32).

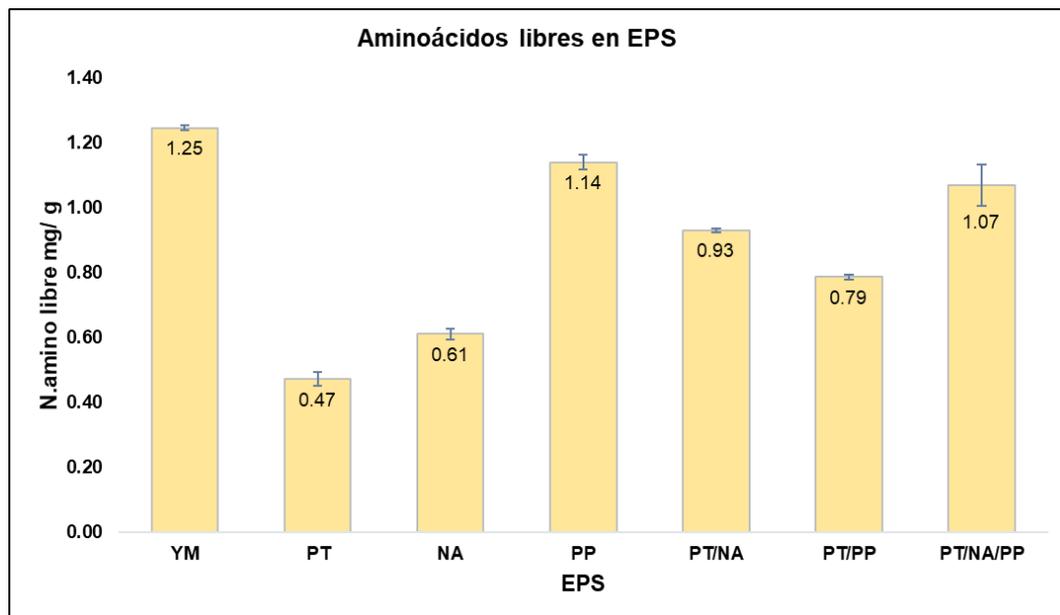


Figura 32. Aminoácidos libres en los EPS de las cascaras de plátano, papa, naranja y del YM.

5.16. Actividad antimicrobiana de los EPS (MIC).

Los ensayos de concentración mínima inhibitoria (MIC) de los EPS combinados de las cascaras de plátano, papa y naranja expuestos a diferentes variables de inoculación frente a *E. coli*, reportaron la actividad antimicrobiana de cada EPS, logrando los mejores resultados con los EPS PT/NA y PT/PP a

100 g/L que registraron su MIC entre los 2.50 y 3.00 mg/mL comparado a los otros EPS que reportaron su MIC > de 3.00 y 6.00 mg/mL (Tabla 11).

Tabla 11: MIC de los EPS combinados PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP a distintas variables frente a *E. coli*.

MIC <i>E. coli</i> vs EPS		
Muestra	EPS	MIC mg/mL
1	PT/NA (100 g/L)	> 2.50
2	PT/PP (100 g/L)	> 2.50
3	PT/NA/PP (100 g/L)	> 6.00
4	PT/NA (200 g/L)	> 6.00
5	PT/PP (200 g/L)	> 6.00
6	PT/NA/PP (200 g/L)	> 6.00
7	PT/NA (100 g/L + 3 mL inóculo)	> 6.00
8	PT/PP (100 g/L + 3 mL inóculo)	> 3.00
9	PT/NA/PP (100 g/L + 3 mL inóculo)	> 3.00
10	PT/NA (100 g/L + 120 h)	> 3.00
11	PT/PP (100 g/L + 120 h)	> 3.00
12	PT/NA/PP (100 g/L + 120 h)	> 3.00

Mediante los ensayos de MIC se comprobó también la actividad antimicrobiana de los EPS de los extractos de las cascarras de plátano, papa y naranja solas y combinadas y del caldo YM, contra las bacterias *E. coli* y *S. aureus* multirresistente SaR (Tabla 12). Encontrado que la MIC de los distintos EPS y del YM frente a *E. coli* se encuentra por encima de 2.50 mg/mL (Tabla 12). Sin embargo, con los EPS de NA y PP, se pueden observar porcentajes de crecimiento de *E. coli* por debajo del 10 %, comparado al control positivo (Figs. 33C y 33D). Además, las muestras de NA, PP, PT/NA y PT/NA/PP en todas sus diluciones reportaron diferencias significativas ($P < 0.05$) cotejado al control de crecimiento de *E. coli*, mientras que, los EPS YM, PT y PT/PP no reportaron diferencias con el control en su dilución más baja de 0.04 mg/mL (Figs. 33A, 33B y 33F). Todos los EPS en su concentración más alta (2.50 mg/mL) presentaron diferencias significativas con el control positivo (Figs. 33A-G).

De igual manera, se evaluó la actividad antimicrobiana (MIC) de los distintos EPS de las cascaras y del YM, contra *S. aureus* (Tablas 12). Obteniendo que el EPS combinado PT/NA, posee una actividad antimicrobiana más eficiente cotejado a las otros EPS, alcanzando su MIC a la concentración de 1.25 mg/mL. Así también, las muestras PT y NA reportaron inhibición completa de *S. aureus* con su dilución más alta MIC = 2.5 mg/mL (Tabla 12 y Figs. 34B, 34C y 34E). Los demás EPS registraron su MIC por arriba de su dilución de 2.50 mg/mL (Figs. 34A, 34D, 34F y 34G). En todos los casos se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre la concentración más alta de los EPS (2.50 mg/mL) y el control positivo de *S. aureus* (Figs. 34A-G). Mientras que, en los EPS PT/PP y PT/NA/PP no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) frente al control positivo hasta la dilución de 0.31 mg/mL y las únicas muestras diferentes al control en todas sus diluciones fueron YM y NA (Figs. 34A y 34C).

Tabla 12. MIC de los EPS PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP y del medio YM frente a *E. coli* y *S. aureus* (SaR).

MIC de EPS vs <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>		
EPS	MIC mg/mL (<i>E. coli</i>)	MIC mg/mL (<i>S. aureus</i>)
YM	> 2.50	> 2.50
PT	> 2.50	MIC = 2.50
NA	> 2.50	MIC = 2.50
PP	> 2.50	> 2.50
PT/NA	> 2.50	MIC = 1.25
PT/PP	> 2.50	> 2.50
PT/NA/PP	> 2.50	> 2.50

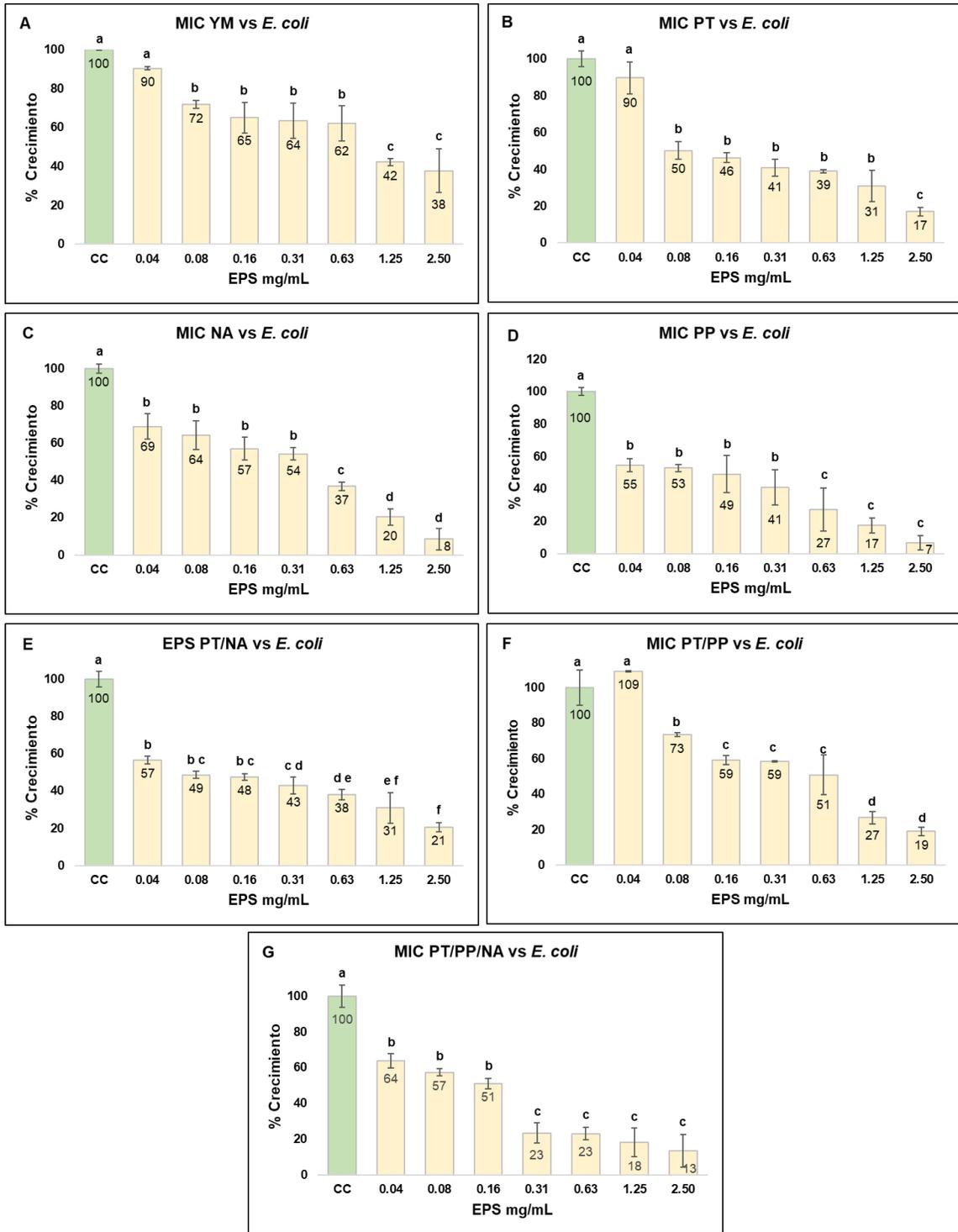


Figura 33. MIC de los EPS de YM (A) y de las cascarras PT (B), NA (C), PP (D), PT/NA (E), PT/PP (F) y PT/NA/PP (G), frente a *E. coli*. Letras distintas indican diferencias significativas $P < 0.05$.

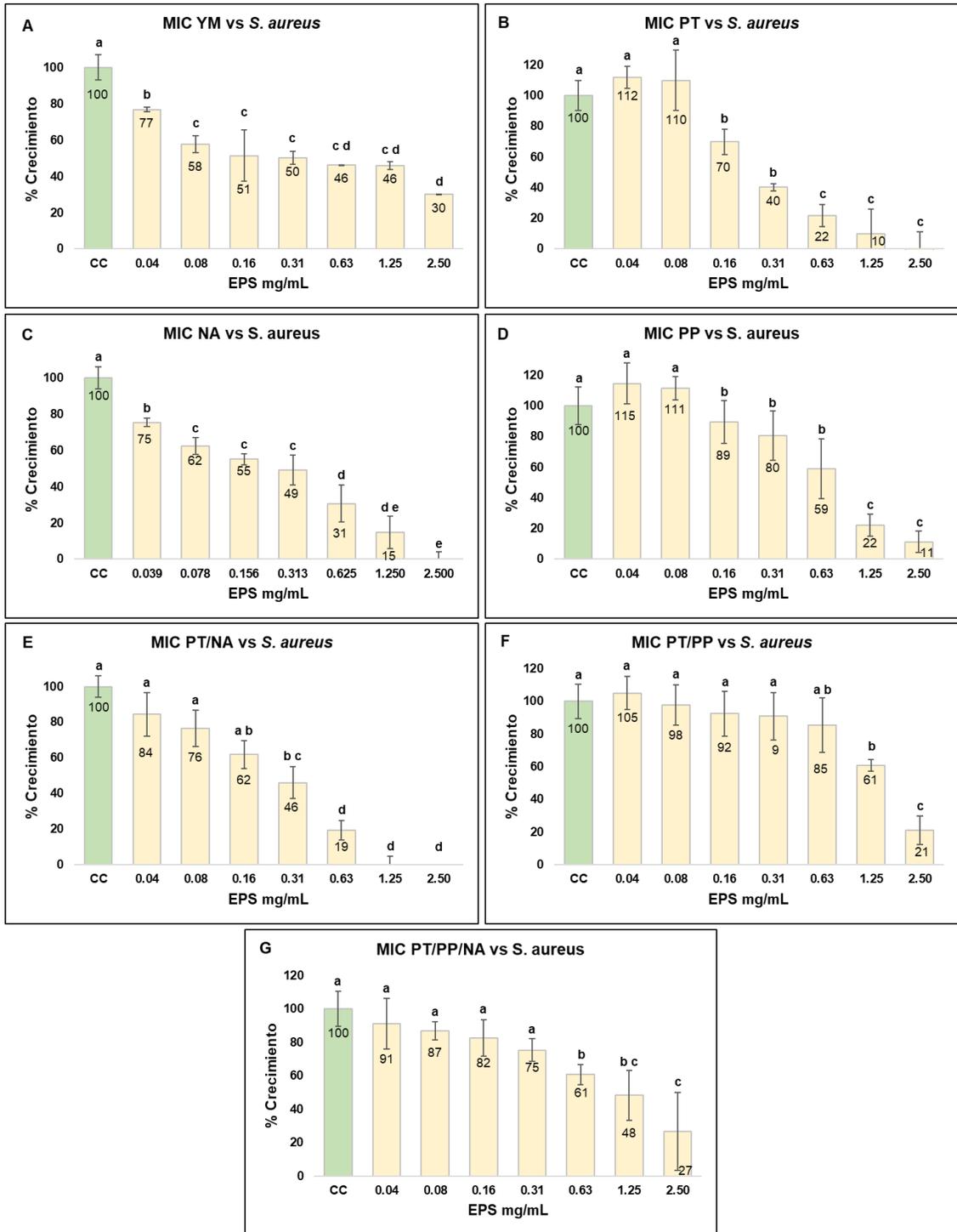


Figura 34. MIC de los EPS de YM (A) y de las cascaras PT(B), NA (C), PP (D), PT/NA (E), PT/PP (F) y PT/NA/PP (G), frente a *S. aureus*. Letras distintas indican diferencias significativas $P < 0.05$.

5.17. Efecto antibiopelícula de los EPS.

Con la evaluación del efecto antibiopelícula de los EPS de las cascaras de plátano, papa, naranja y del YM, contra las bacterias *E. coli* y *S. aureus*. Se encontró que todos los EPS lograron inhibir las biopelículas de *E. coli*, pero con una mayor eficiencia los EPS a base de residuos (Figs. 35A-G). El EPS combinado PT/NA reportó la mayor actividad antibiopelícula de todas las muestras, alcanzando la inhibición desde la dilución 0.16 mg/mL (Figura 35E). Seguido de los EPS NA y PP con inhibiciones a partir de la concentración 0.31 mg/mL y PT y PT/NA/PP con inhibiciones de biopelículas desde 0.63 mg/mL (Figs. 35B, 35C, 35D y 35G). Se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) para antibiopelículas entre todos los EPS y el control positivo de *E. coli* a partir de la dilución 0.31 mg/mL (Figs. 35A-G). Además, la concentración 0.04 mg/mL de los EPS YM, NA y PT/PP no fueron significativamente distintas al control positivo como se aprecia en las Figuras 35A, 35C y 35F.

Del mismo modo, los resultados del efecto antibiopelícula de los EPS de las cascaras de plátano, papa, naranja y del YM, frente a *S. aureus*, revelaron que a partir de la concentración de 0.31 mg/mL los EPS PT, NA, PT/NA y PT/NA/PP lograron inhibir completamente la formación de biopelículas de *S. aureus* (Figs. 36B, 36C, 36E y 36G). Los EPS de YM, PP y PT/PP reportaron inhibición completa de biopelículas a partir de la dilución de 0.63 mg/mL (Figs. 36A, 36B y 36F), demostrando una mayor eficacia de inhibición de los EPS contra las biopelículas de *S. aureus*. Por último, a partir de la dilución de 0.16 mg/mL, en todas las muestras analizadas se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) frente al control de *S. aureus*.

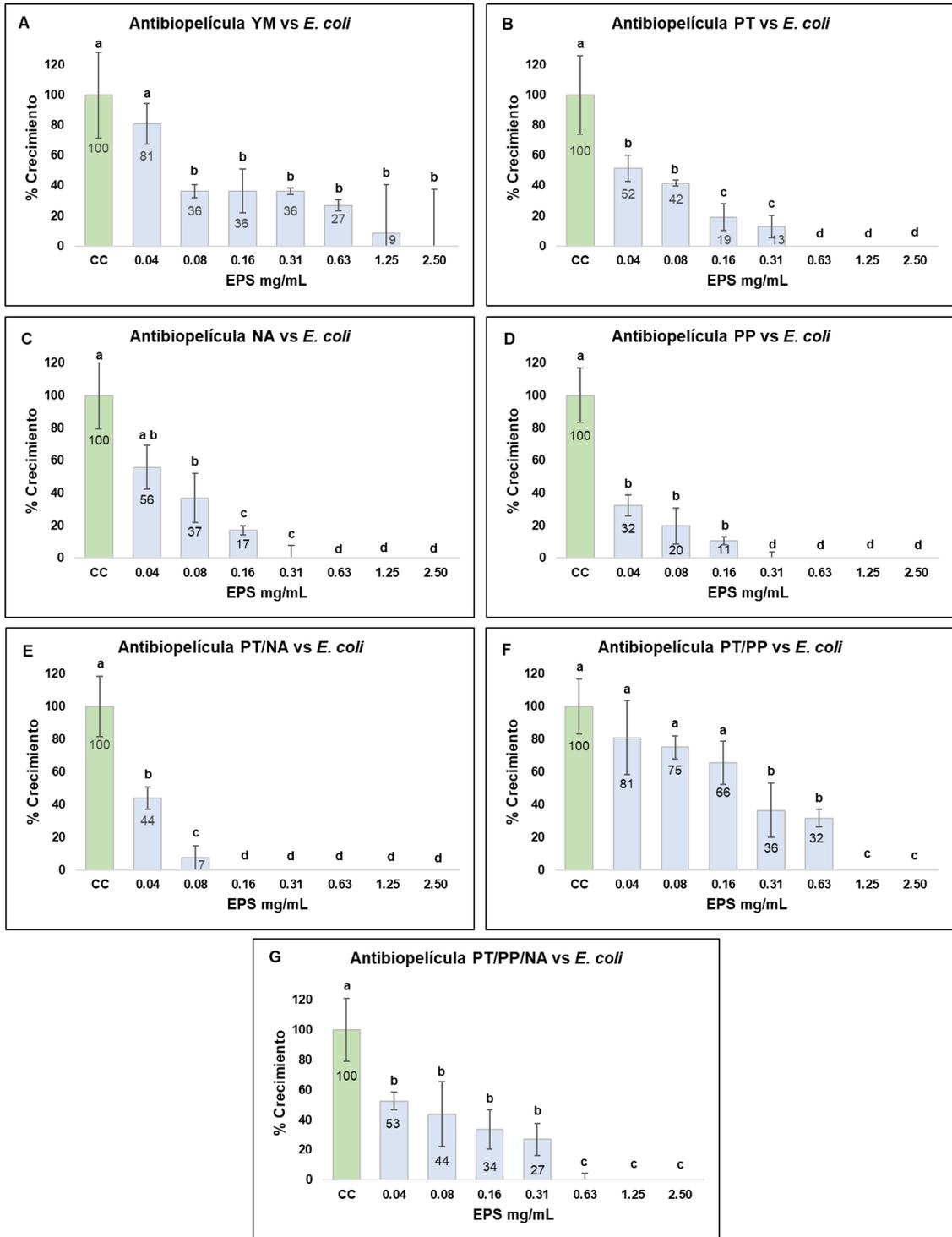


Figura 35. Antibiopelículas de los EPS de YM (A) y de las cascarras PT (B), NA (C), PP (D), PT/NA (E), PT/PP (F) y PT/NA/PP (G), frente a *E. coli*. Letras distintas indican diferencias significativas $P < 0.05$.

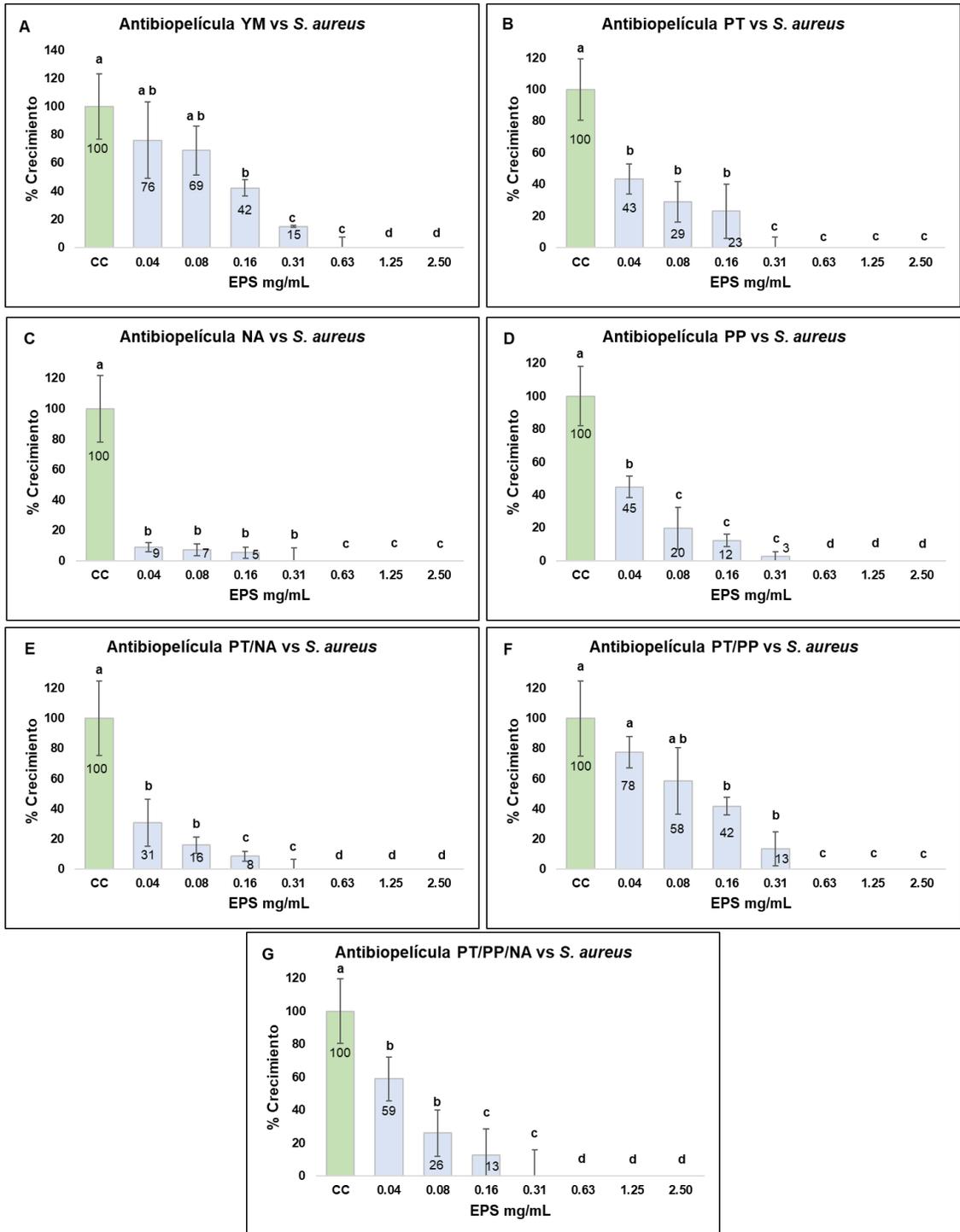


Figura 36. Antibiopelículas de los EPS de YM (A) y de las cascarras PT (B), NA (C), PP (D), PT/NA (E), PT/PP (F) y PT/NA/PP (G), frente a *S. aureus* (*SaR*). Letras distintas indican diferencias significativas $P < 0.05$.

5.18. Películas delgadas elaboradas con los EPS obtenidos.

La factibilidad de los EPS de las cascarras de plátano, papa, naranja y sus combinaciones, para ser utilizados en la elaboración de películas delgadas de recubrimiento, se comprobó empleando el método de elaboración de películas y recubrimientos SPIN COATING. Consiguiendo elaborar películas delgadas a partir de los 6 EPS de residuos PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP con las características peculiares de cada residuo, como se muestra en la Figura 37. Las películas de los EPS NA y PT/NA mostraron superficies plásticas homogéneas, lisas y más claras que las otras películas, incluso la película de NA fue totalmente transparente (Figs. 37A y 37D). Las películas PT y PT/NA/PP (Figs. 37B y 37F), presentaron estructuras plásticas firmes con aspectos rugosos y menos transparentes. Finalmente, las películas de los EPS PP y PT/PP, fueron las más oscuras, con aspectos más débiles y estructuras quebradizas (Figs. 37C y 37E).

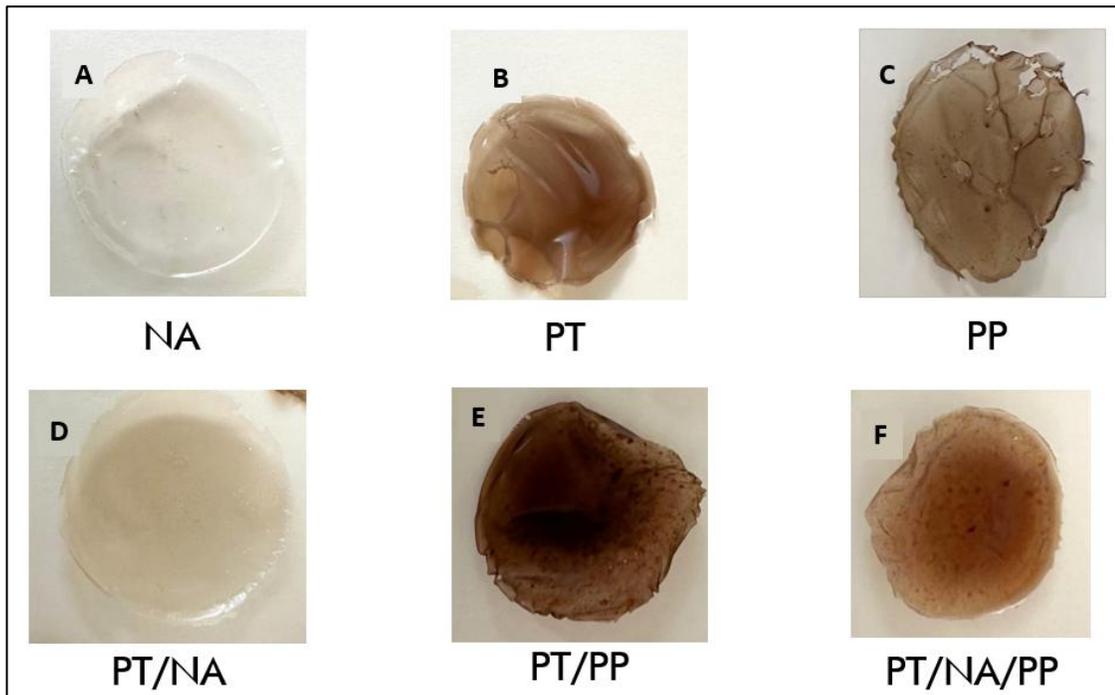


Figura 37. Películas delgadas de los EPS de las cascarras de plátano, papa, naranja y sus combinados. A) Película del EPS NA, B) Película del EPS PT, C) Película del EPS PP, D) Película del EPS PT/NA, E) Película del EPS PT/PP y F) Película del EPS PT/NA/PP.

5.19. Caracterización superficial (AFM) de las películas delgadas.

Para conocer mejor las características morfológicas y topográficas (espesor, rugosidad y textura) de las películas delgadas elaboradas con EPS de las cascaras de plátano, papa, naranja y sus combinaciones, se realizó una evaluación superficial mediante microscopía de fuerza atómica (AFM). La captación de imágenes de las películas por AFM se efectuó a tres distancias de escaneo (20, 5 y 1 μm) y se reportaron en 2D y 3D (Figs. 38, 39, 40, 41, 42 y 43). En el caso de la película del EPS de cáscara de plátano (PT), se observó una superficie rugosa con protuberancias irregulares y los valores de rugosidad variaron según el tamaño del escaneo, con un máximo de 2.8545 nm a 5 μm y un mínimo de 1.9936 nm a 20 μm . Además, el espesor fue menor a 115 nm, con la capa más delgada midiendo 31.1 nm (Figura 38).

En la Figura 39 se muestra la topografía superficial de la película del EPS de NA, donde se puede visualizar una textura irregular rugosa, en los tres campos de escaneo (20, 5 y 1 μm). Los valores de rugosidad de esta película oscilaron entre 2.317 y 7.0275 nm, siendo el valor más bajo del escaneo a 1 μm y el más alto a 20 μm . El espesor de la película NA también reportó el valor más alto a 20 μm y el más bajo a 1 μm con 109.7 nm y 24.7 nm respectivamente (Figura 39). Por otro lado, en la película del EPS de cáscara de papa (PP), la rugosidad se mantuvo entre 4 y 5.5 nm, con el valor más bajo de 4.3159 nm y un espesor de 48.5 nm al escaneo de 1 μm (Figura 40).

En cuando a las películas de los EPS combinados, las imágenes de la película de PT/NA revelaron una superficie más lisa y homogénea comparado a las otras películas, con valores de rugosidad entre 0.5791 nm en el escaneo de 5 μm y 0.2067 nm en el de 20 μm . Variando su espesor desde 6.5 nm en el escaneo de 1 μm hasta 31.7 nm en el de 5 μm (Figura 41). Por último, las películas de los EPS de PT/PP y PT/NA/PP mostraron morfologías similares con topografías más rugosas y prominentes relieves y con valores de rugosidad de 2.9052 nm para PT/PP y 2.7097 nm para PT/NA/PP en el escaneo a 1 μm . El

espesor registrado de estas películas fue de 53.1 nm y 24.7 nm respectivamente (Figs. 42 y 43).

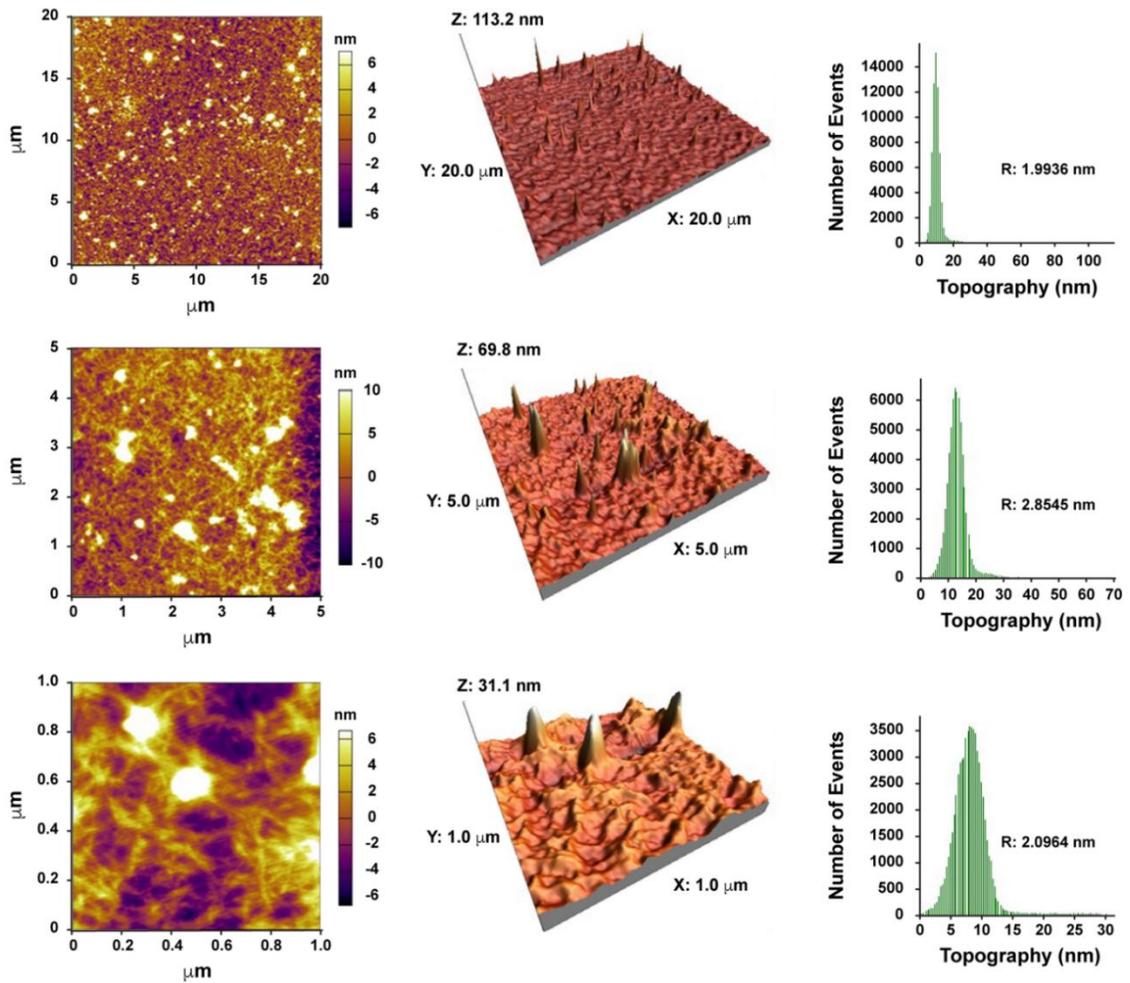


Figura 38. Morfología y topografía superficial (AFM) en 2D y 3D de la película del EPS PT.

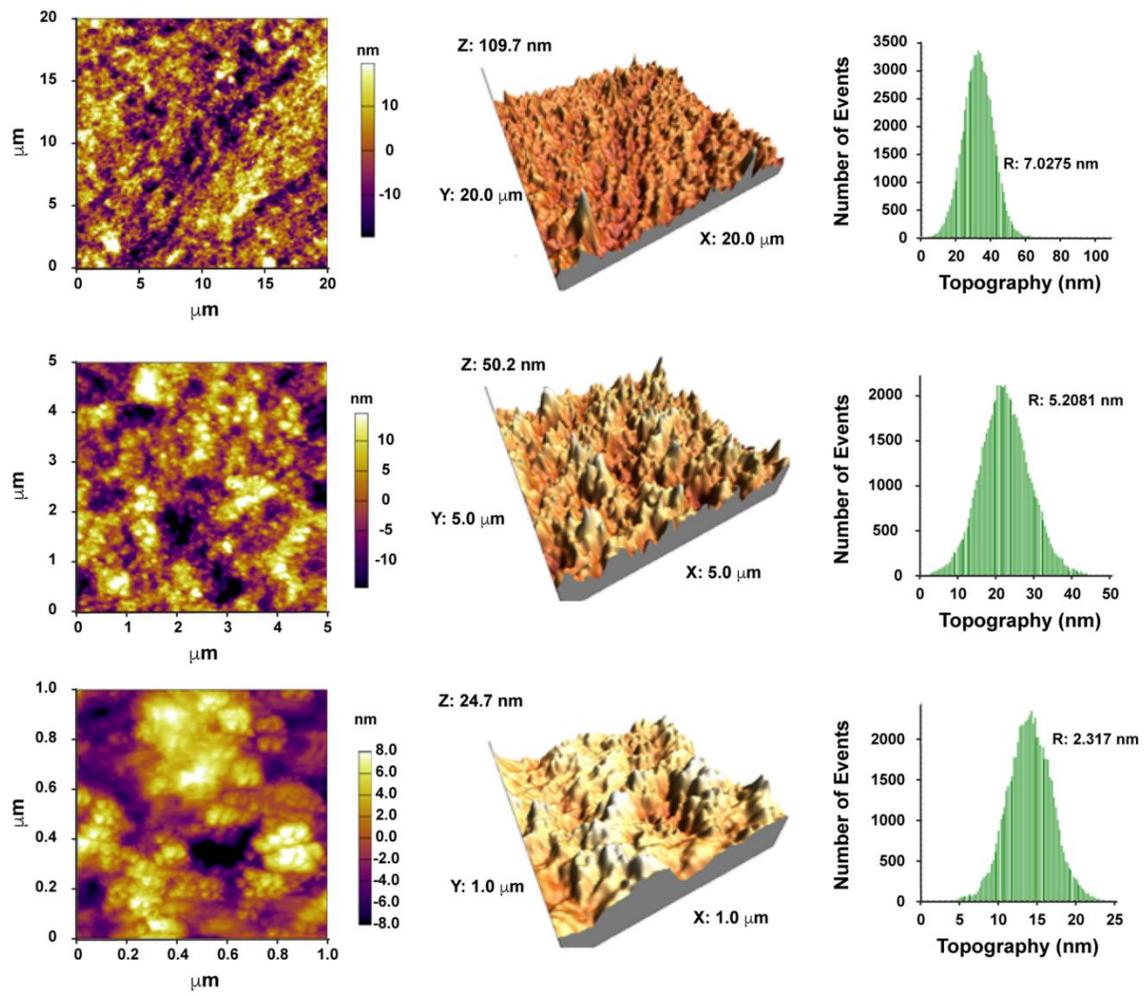


Figura 39. Morfología y topografía superficial (AFM) en 2D y 3D de la película del EPS NA.

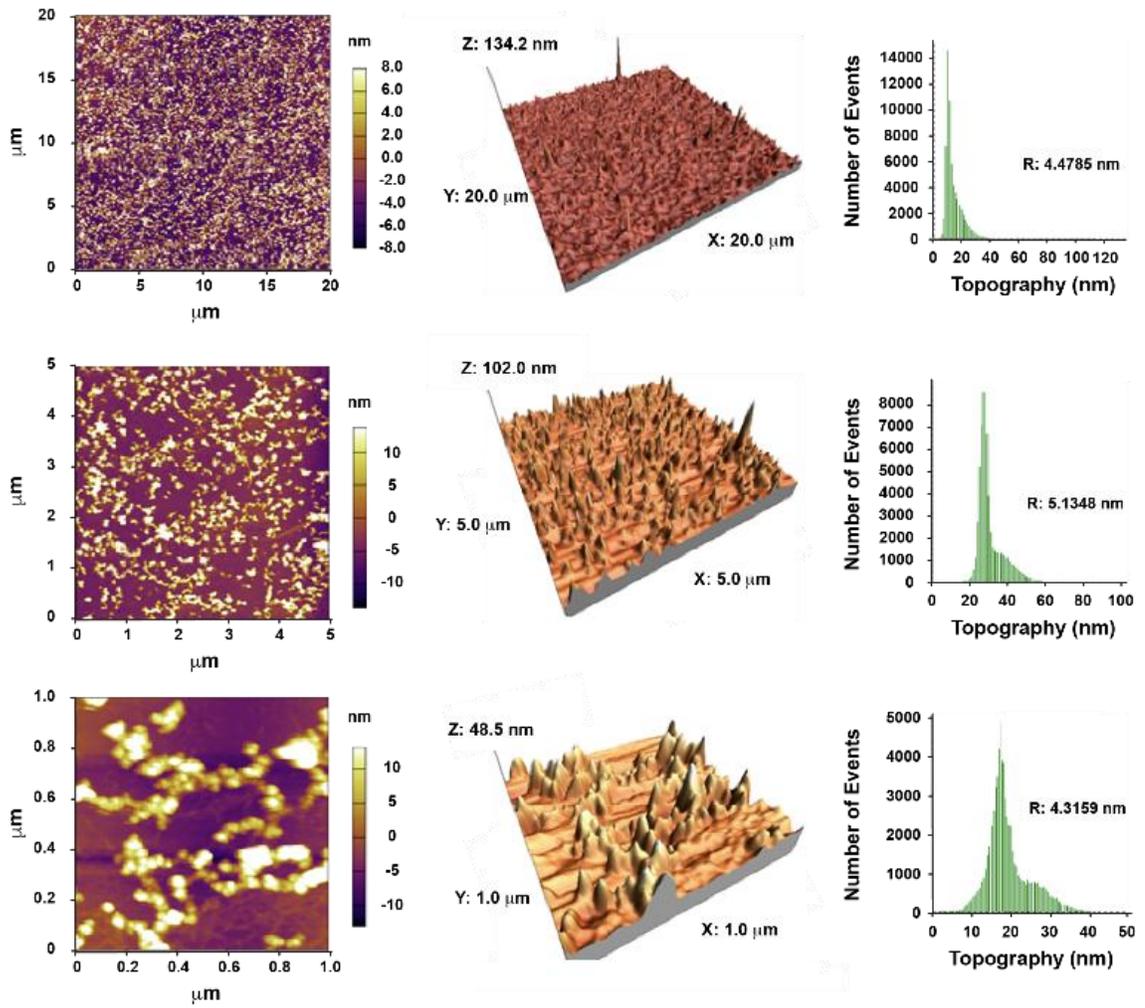


Figura 40. Morfología y topografía superficial (AFM) en 2D y 3D de la película del EPS PP.

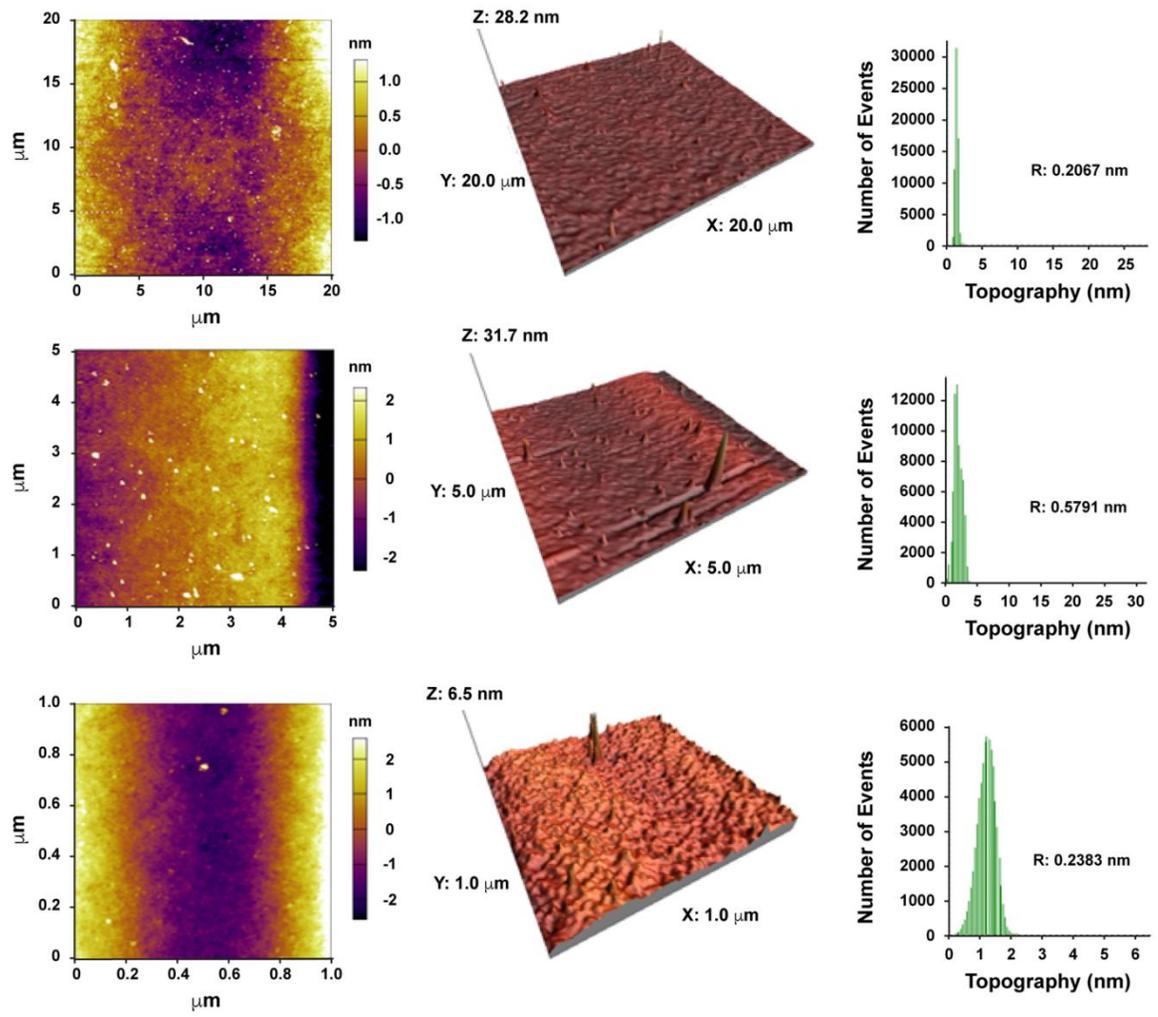


Figura 41. Morfología y topografía superficial (AFM) en 2D y 3D de la película del EPS PT/NA.

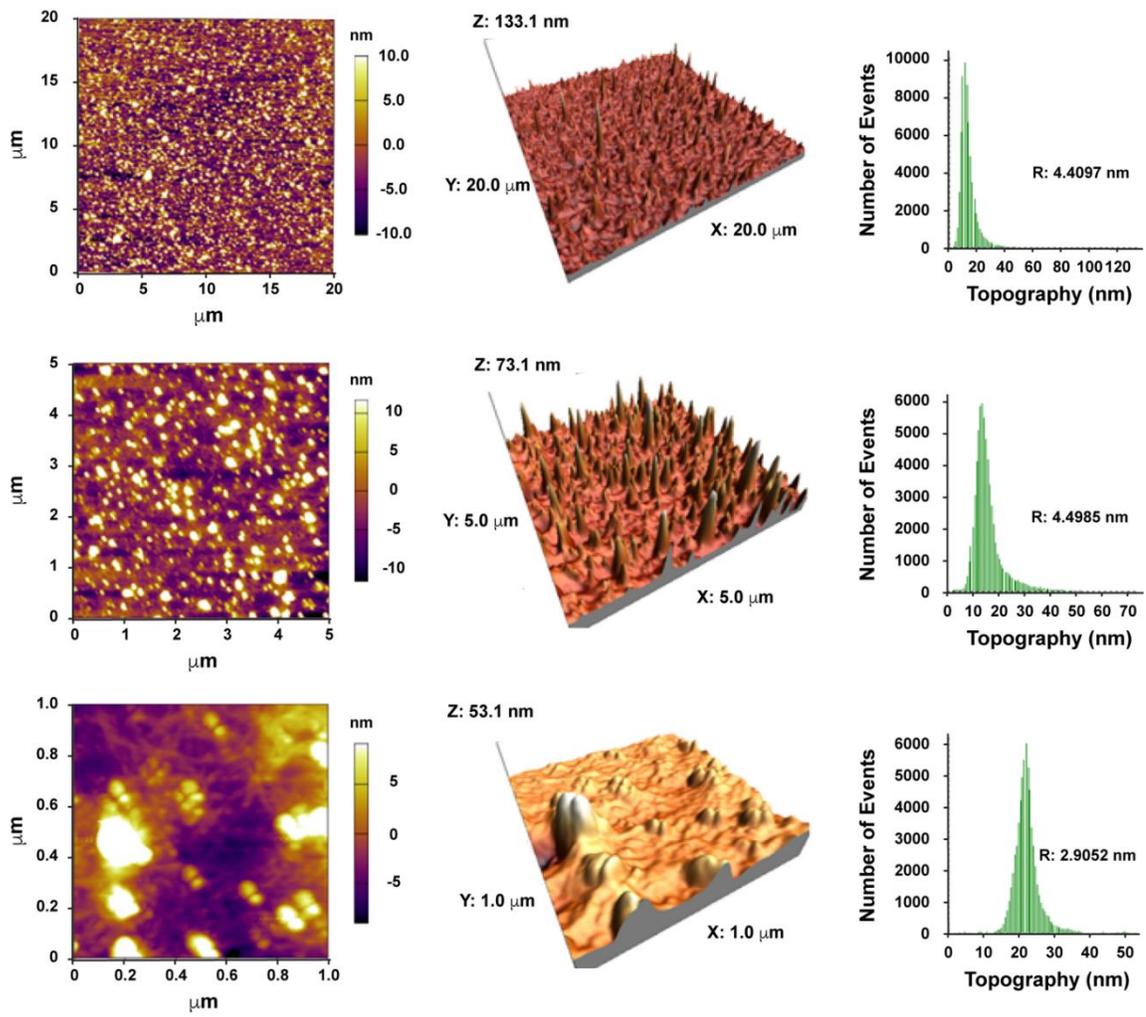


Figura 42. Morfología y topografía superficial (AFM) en 2D y 3D de la película del EPS PT/PP.

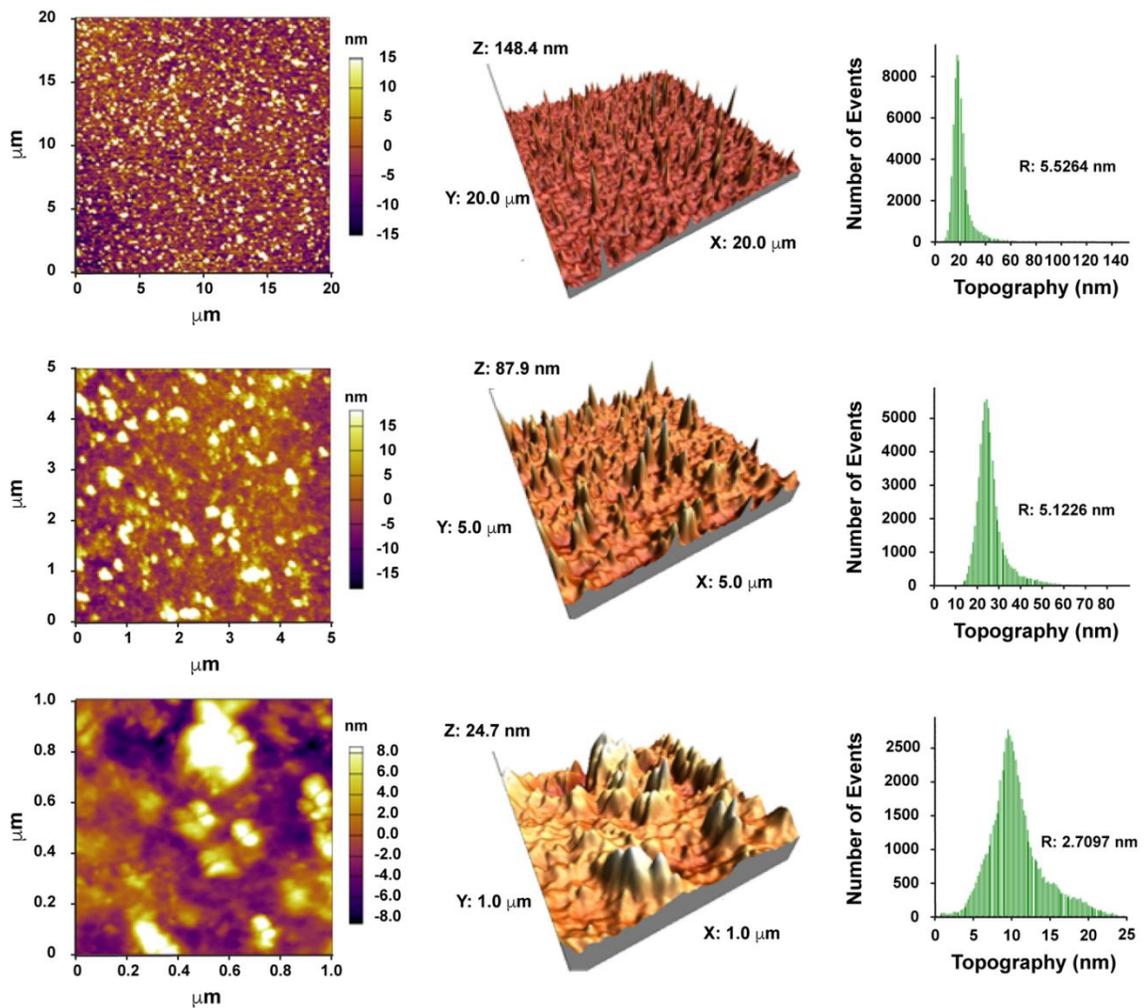


Figura 43. Morfología y topografía superficial (AFM) en 2D y 3D de la película del EPS PT/NA/PP.

5.20. Permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas de EPS.

El análisis de permeabilidad al vapor de agua (WVP) permitió cuantificar la cantidad de agua que se difunde por unidad de área a través de las películas elaboradas con EPS de las cascara de plátano, papa, naranja y sus combinaciones. Observando tendencias de WVP similares en todas las películas evaluadas y pendientes de regresión con coeficientes de determinación superiores a 0.9950 ($R^2 > 0.9950$). Los valores de WVP ($\text{g}/\text{m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}$) fueron de 3.89×10^{-3} para la película del EPS de cáscara de plátano (PT), 3.05×10^{-3} para la del EPS NA, 3.61×10^{-3} para la de EPS de cáscara de papa (PP), $3.32 \times$

10^{-3}) para la película del EPS PT/NA, 4.44×10^{-3}) para la del EPS PT/PP y 3.89×10^{-3}) para la del PT/NA/PP (Figs. 44A, 44B, 44C, 44D, 44E y 44F). Además, la película del EPS NA, registró el valor más bajo de WVP, mientras que la combinación PT/PP obtuvo el valor más alto.

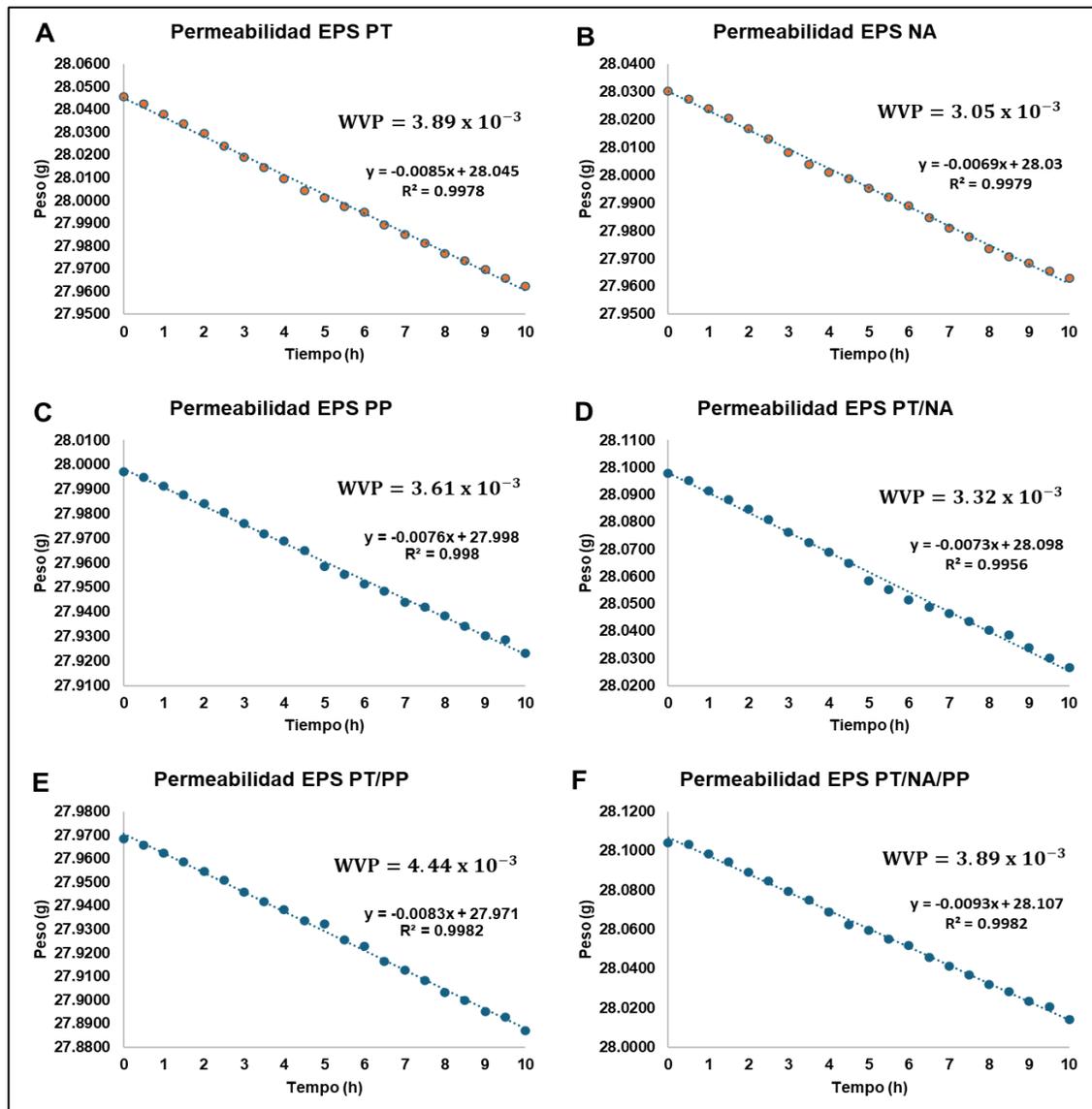


Figura 44. Tendencias de WVP de las películas de EPS: A) Película de PT, B) Película de NA, C) Película del PP, D) Película de PT/NA, E) Película de PT/PP y F) Película de PT/NA/PP.

5.21. Solubilidad de las películas delgadas de EPS en agua y etanol.



Figure 45. Solubilidad de las películas de EPS en agua y etanol absoluto: A) Películas en agua y B) Películas en etanol.

Tabla 13: Porcentaje de solubilidad de las películas de EPS en agua y etanol.

Solubilidad de las películas de EPS (%)		
Película	Agua	Etanol absoluto
PT	90.09	1.96
NA	64.71	1.05
PP	79.49	3.81
PT/NA	82.69	2.04
PT/PP	71.84	3.85
PT/NA/PP	73.4	3.42

5.22. Eficacia de inhibición microbiana ZOI de las películas de EPS.

La eficacia antimicrobiana obtenida por el ensayo de zona de inhibición (ZOI) demostraron que las películas de los EPS de las cascarras de plátano, papa y naranja exhiben propiedades antimicrobianas contra *S. aureus* y *E. coli* (Figs. 46A, 46B, 46C y 46 D). La ZOI presentó mayor difusión y anchura con el método de filtro y solución acuosa de las películas contra *S. aureus* y *E. coli* (Figs. 46A y 46C). Mientras que, con la deposición directa de las películas sobre el agar, no se observaron halos de inhibición cuantificables; sin embargo, tampoco hubo crecimiento bacteriano en la superficie de las películas, las cuales permanecieron intactas durante el período de evaluación (Figs. 46B y 46D). Se registró una mayor eficacia antimicrobiana contra *S. aureus*, con excepción de las películas YM y PT/PP (Figura 47), que no mostraron halos notables. Las películas de los

EPS NA y PP presentaron los halos más pequeños contra *E. coli*. Por último, la película del EPS PT/NA registró la mayor eficacia antimicrobiana frente a las dos bacterias utilizadas (Figura 47).

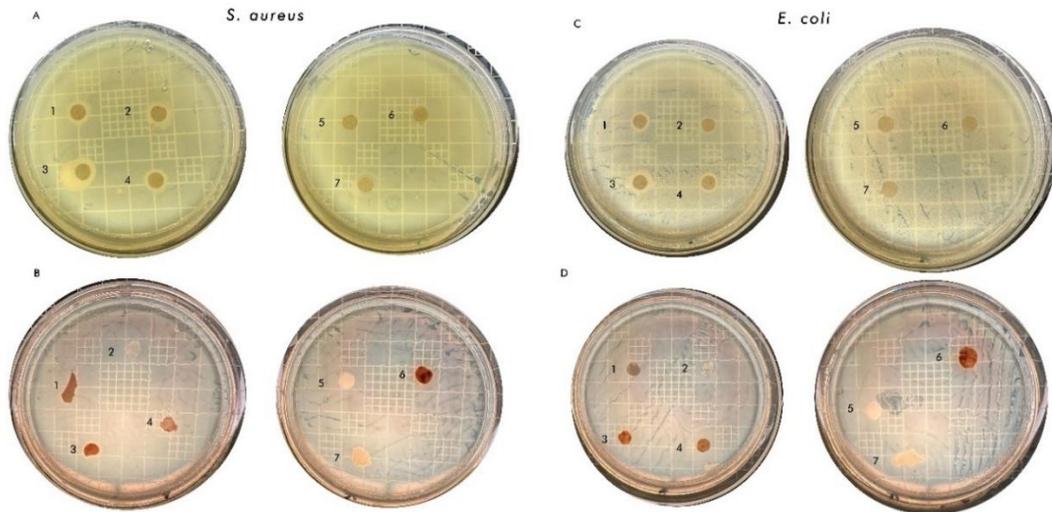


Figura 46. Zona de Inhibición (ZOI) de las películas de EPS: A) ZOI de *S. aureus* vs películas acuosas, B) ZOI de *E. coli* vs películas acuosas, C) ZOI de *S. aureus* vs películas secas, y D) ZOI de *E. coli* vs películas secas.

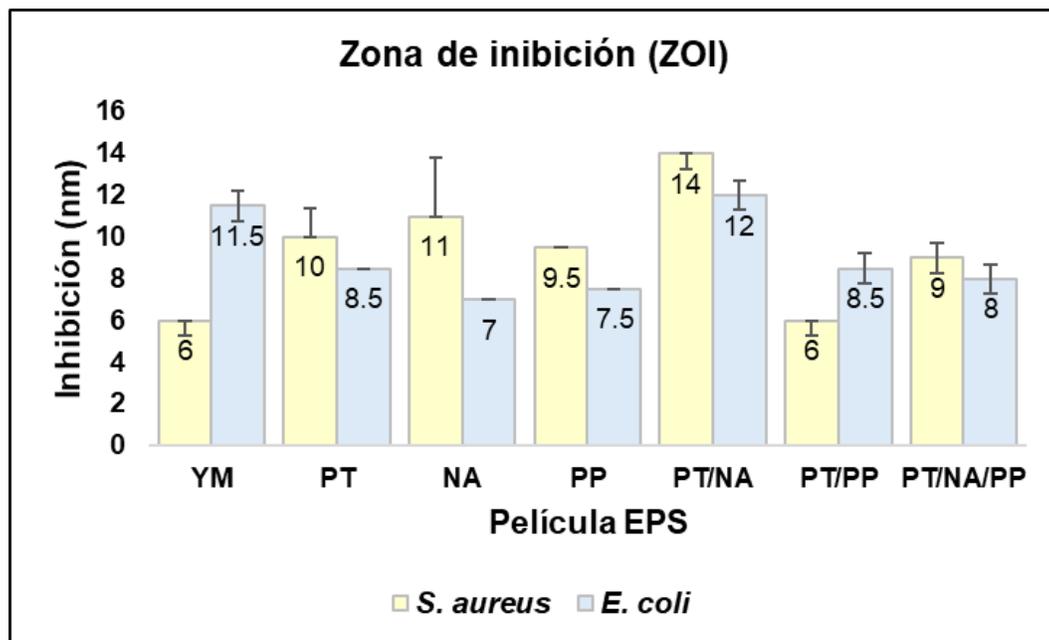


Figura 47. Resultados ZOI de las películas de EPS de cascara de plátano, naranja y papa contra *S. aureus* y *E. coli*.

5.23. Propiedades reológicas de los EPS.

Las propiedades reológicas de los EPS de las cascavas de plátano (PT), papa (PP), naranja (NA), sus combinaciones (PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP) y del medio YM, frente a cuatro hidrocoloides comerciales: goma xantana, goma arábica, goma guar y pectina se muestran en las Figuras 48A, 48B, 48C y 48D. En la Figura 48A, podemos observar que la goma xantana registró los valores de estrés de corte más altos (2.60 Pa a 100 1/s), mientras que, todos los EPS presentaron valores considerablemente menores entre 0.06 y 0.43 Pa. El EPS NA alcanzó el estrés de corte más cercano a la xantana con 0.43 Pa a 100 1/s, seguido de los combinados PT/NA y PT/PP con 0.24 Pa para los dos. Por otro lado, la goma arábica mostró un estrés de corte más estable con un máximo de 0.55 Pa a 20 1/s, y los EPS con valores más cercanos fueron NA, PT/NA y PT/PP con 0.43 y 0.24 Pa a 100 1/s (Figura 48B). En la Figura 48C podemos ver que la goma guar alcanzó un estrés de corte de máximo 0.54 Pa a 100 1/s y su comportamiento fue similar a la xantana, y el valor más cercano fue del EPS NA 0.43 Pa a la misma velocidad. Finalmente, la pectina alcanzó un estrés de corte de 0.18 Pa a 100 1/s, siendo este inferior a los valores registrados por los EPS NA, PT/NA y PT/PP con 0.43 y 24 Pa a 100 1/s respectivamente (Figura 48D).

De igual manera, en las Figuras 49A, 49B, 49C y 49D podemos apreciar la viscosidad de los EPS de PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP y del YM contra las gomas xantana, arábica, guar y pectina. Observando en la Figura 49A que la viscosidad (0.32 Pa-s) de la goma xantana fue significativamente superior a las viscosidades de todos los EPS, que alcanzaron viscosidades entre 0.02 y 0.06 Pa-s, siendo el valor más alto del EPS NA. La goma arábica alcanzó una viscosidad de 0.22 Pa-s y los EPS NA y PP mostraron los valores más cercanos con 0.06 y 0.03 Pa-s respectivamente (Figura 49B). Así también, la Figura 49C, presenta la viscosidad registrada por la goma guar (0.04 Pa-s) contra los EPS, donde se observa que la viscosidad del EPS NA (0.06 Pa-s) superó la viscosidad esta goma. Finalmente, la viscosidad de la pectina (0.02 Pa-s) fue similar a las

viscosidades de los EPS de YM, PT, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP y los EPS PP y NA lograron viscosidades mayores a la pectina con 0.03 y 0.06 Pa-s.

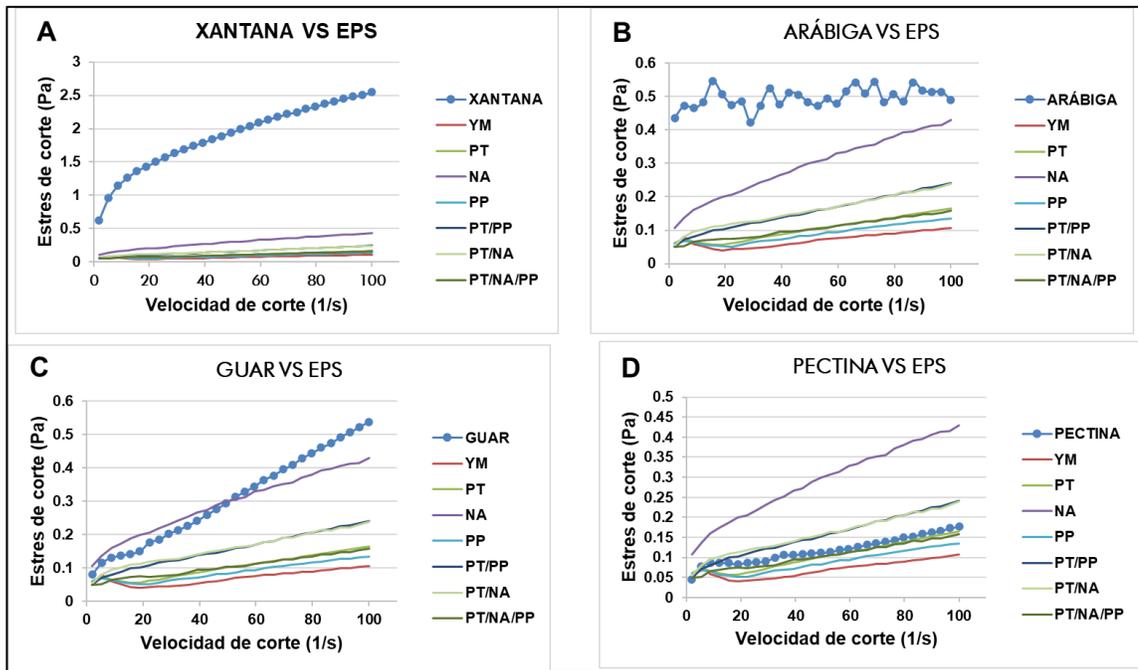


Figura 48. Estrés de corte de los EPS de las cascaras de plátano, papa y naranja y del YM.

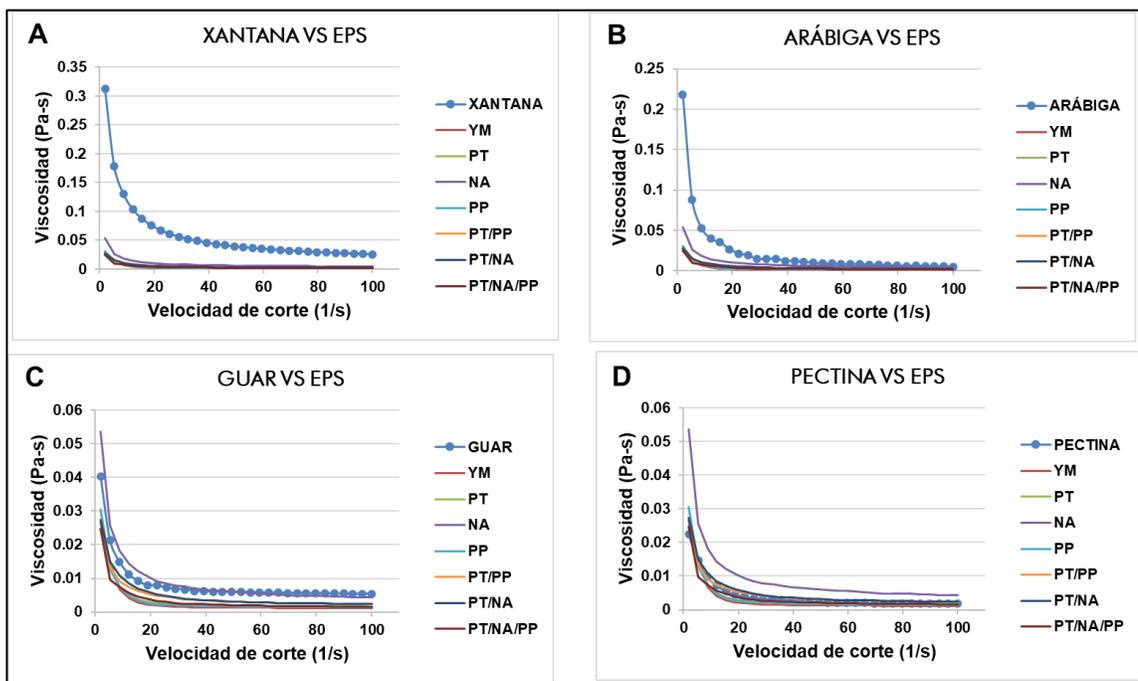


Figura 49. Viscosidad de los EPS de las cascaras de plátano, papa y naranja y del YM.

5.24. Escalamiento en la producción de los EPS de YM y NA.

5.24.1. Crecimiento y consumo de azúcares durante el escalado.

Las Figuras 5A y 50B muestran la evolución y el consumo de azúcares reductores de *R mucilaginosa* UANL-001L durante el escalado a 5 L de los medios de cultivo YM y NA. Observando que en ambos sustratos la levadura presentó un patrón de crecimiento y consumo de azúcares similar hasta las 72 h (fase estacionaria). El así también, en las primeras 48 h se registró el mayor consumo de azúcares y crecimiento de la levadura en los extractos de interés. Además, con el medio YM entre las 72 y 96 h todavía se mostró un leve crecimiento, mientras que, en el extracto NA el máximo de crecimiento se logró a las 72 h y desde ese tiempo se reduce el crecimiento celular (Figs. 50A y 50B).

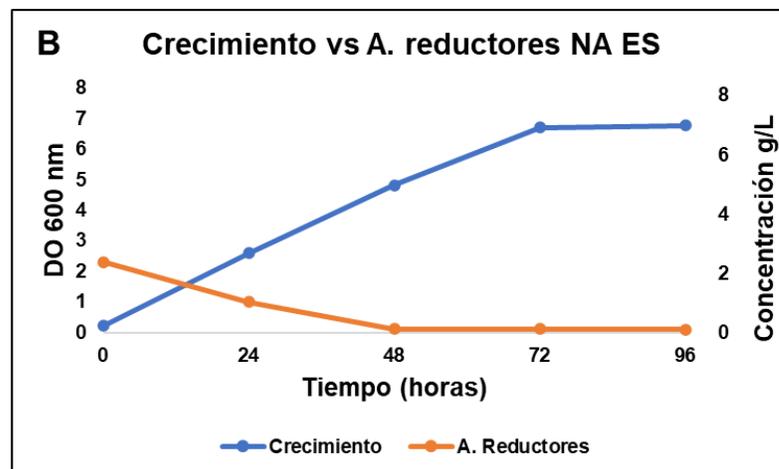
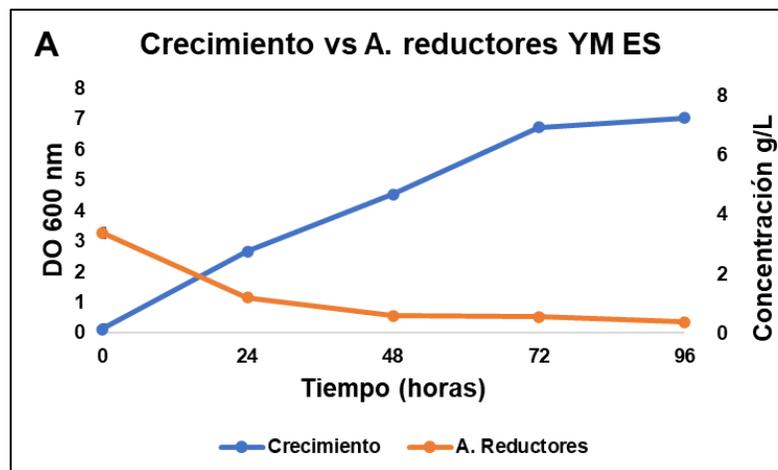


Figura 50. Crecimiento y consumo de azúcares reductores de *R. mucilaginosa* UANL-001L durante el escalado de los medios YM y NA. A) Escalado del YM, B) Escalado del extracto NA.

5.24.2. Producción de EPS del medio YM y NA escalados.

En la Figura 5 se reporta la producción de EPS de *R. mucilaginosa* UANL-001L resultante del escalamiento a 5 L de los medios de cultivo YM y NA, comparado a la producción de estos mismos extractos a escala de laboratorio (200 mL). Los valores de producción de EPS conseguidos con el escalamiento fueron de 624 mg/L para el YM y 731 mg/L para el extracto NA. Comparado a la producción de EPS del YM y NA en 200 mL, la producción por litro del EPS de YM aumento 208 mg con el escalado y la producción de EPS por litro del extracto de cáscara de naranja disminuyó 129 mg con el escalamiento (Figura 51).

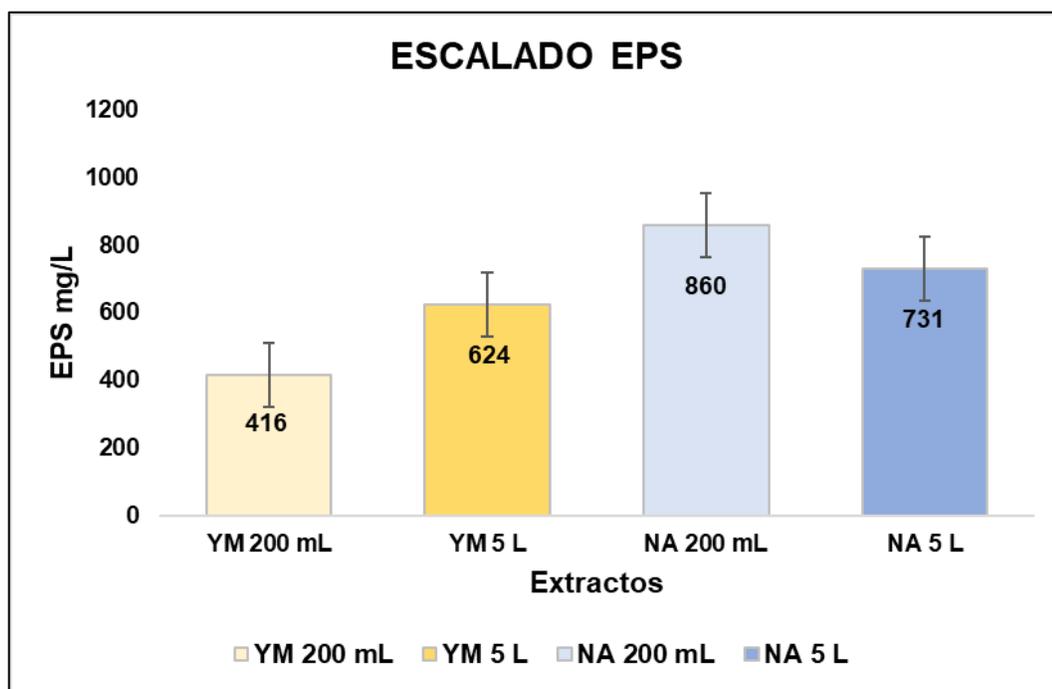


Figura 51. Escalamiento (200 mL a 5 L) en la producción de EPS de los medios YM y NA.

CAPÍTULO 6

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1. Stocks microbianos y extractos de las cascaras de plátano, papa y naranja.

El desarrollo celular de *R. mucilaginosa* UANL-001L se evaluó después de 24 h de inoculación en el medio YM a 28 °C y 200 rpm. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 600 nm, obteniendo un valor de $DO_{600\text{ nm}} = 1.01$, resultado que es semejante a los reportados por Torres-Álvarez et al. (2022), quienes indican que *R. mucilaginosa* UANL-001L, usando YM como fuente de nutrientes, alcanza una $DO_{600\text{ nm}}$ entre 1.0 y 1.05 tras 24 h de crecimiento. También, se verificó la naturaleza e integridad celular de la cepa mediante siembra en placas con YM y 2 % de agar microbiológico. Tras 48 h de incubación (Figura 15A), las colonias presentaron la típica coloración rosa-anaranjada, característica de *R. mucilaginosa* UANL-001L, lo que confirma las observaciones previas de Garza et al. (2016) y Vázquez-Rodríguez et al. (2018).

Por otro lado, los extractos obtenidos de las cascaras de plátano, naranja y papa, individuales y combinados (PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP), contenían los nutrientes esenciales para el desarrollo de *R. mucilaginosa* UANL-001L. Evitando la adición de otras fuentes de carbono y nitrógeno a los extractos finales. Esto podría deberse a la naturaleza y combinación de los residuos orgánicos utilizados, ya que Aguirre-Forero y colaboradores (2022) señalan que los desechos agroindustriales, especialmente las cascaras de papa y naranja son ricos en compuestos carbonados y nitrogenados, lo que favorece su uso en aplicaciones como compost, extractos y otros productos. Además, con la esterilización los extractos mostraron una coloración oscura (Figura 15B), lo cual

según Torres-Álvarez et al. (2022), es característico de la cáscara de plátano por la presencia de pigmentos como la melanina, derivada de la tirosina y responsable de las manchas negras en plátanos maduros.

6.2. Síntesis de los EPS obtenidos de los extractos combinados.

Todos los extractos combinados de las cascarras de plátano, papa y naranja, bajo las diferentes composiciones (PT/NA 50/50, PT/PP 50/50 y PT/NA/PP 50/25/25) y variables estudiadas (100 g/L, 200 g/L, 100 g/L + 3 mL de inóculo y 100 g/L + 120 h de incubación), alcanzaron los niveles nutricionales adecuados para el crecimiento de *R. mucilaginosa* UANL-001L y la síntesis de EPS (Tabla 7). Confirmando los hallazgos de estudios previos realizados por Torres-Álvarez et al. (2022) y Aguirre-Forero et al. (2022), que la cáscara de plátano contiene los nutrientes esenciales para el desarrollo de *R. mucilaginosa*, responsable de la producción de EPS. Asimismo, los desechos agroindustriales como las cascarras de naranja y papa son ricos en carbono y nitrógeno, elementos críticos para el crecimiento de esta levadura. Esto probablemente contribuyó a la viabilidad de los extractos para la producción de EPS, sobresaliendo los extractos PT/NA a 100 g/L (470 mg/L) y PT/NA/PP a 200 g/L (476 mg/L) como los más eficientes para la síntesis de EPS.

6.3. Caracterización proximal de los extractos de las cascarras.

La concentración utilizada (100 g/L) para elaborar todos los extractos de las cascarras de plátano, papa y naranja: PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP, fue establecida en base al tratamiento con mayor síntesis de EPS a partir de la cáscara de plátano reportado en un estudio previo de Torres-Álvarez y sus colaboradores (2022). Los extractos PT, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP reportaron valores de pH iguales y cercanos al óptimo (pH 5.0) para el crecimiento adecuado de *R. mucilaginosa* UANL-001L. Sin embargo, los valores de pH registrados por los medios de NA y PP (4.0 y 6.0), pese a ser los más distantes del óptimo, no

rebasaron el rango de pH (4.0 a 6.5) reportado para el crecimiento normal de esta levadura (Garza et al., 2016; Vázquez Rodríguez, 2016).

El mayor contenido de humedad se registró con el extracto de cáscara de naranja (NA) y el menor con el de cáscara de papa (PP) con $79.6 \pm 0.08 \%$ y $94.5 \pm 0.07 \%$ respectivamente (Tabla 6). Este comportamiento puede explicarse por la naturaleza de los residuos, ya que las cascarras de cítricos, como la naranja, contienen un mayor porcentaje de agua y menos sólidos en comparación con residuos más densos como la cáscara de papa, como lo mencionan Koochi y colaboradores (2023). Del mismo modo, los contenidos de humedad de los extractos PT, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP, revelan una influencia balanceada entre los componentes de los diferentes residuos usados.

En cuanto a los sólidos totales, el extracto de cáscara de papa (PP) presentó el mayor contenido de sólidos con $20.4 \pm 0.08 \%$, mientras que, el extracto PT reportó el menor contenido con $9.56 \pm 0.06 \%$ (Tabla 6). Pudiendo atribuirse a las características intrínsecas de estos residuos, ya que la papa es rica en almidones y otros compuestos sólidos, mientras que la cáscara de plátano tiene mayor contenido de humedad y compuestos fibrosos que influyen su contenido de sólidos totales (Bishnoi et al., 2023). Por su parte, los extractos de NA, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP, presentaron contenidos intermedios de sólidos totales entre 10% y 14% , reflejando la interacción de los componentes de estos residuos que influyen en la relación de la humedad con los sólidos totales. Esta tendencia está en línea con los estudios previos de Koochi et al (2023), donde sugieren que la combinación de residuos orgánicos puede equilibrar sus propiedades físicas, lo que favorecería a su aprovechamiento biológico.

Los resultados del contenido de sólidos volátiles y porcentaje de cenizas en los extractos sugieren que, el alto contenido de sólidos volátiles en el extracto de NA (Tabla 6), puede estar asociado con la naturaleza de los residuos cítricos, los cuales son conocidos por tener menos material inorgánico y más compuestos

orgánicos fácilmente degradables, como carbohidratos y ácidos orgánicos, que son volátiles a altas temperaturas (Aguirre-Forero et al., 2022). En contraste, el extracto PT presentó el mayor porcentaje de cenizas (Tabla 6), lo que valida la presencia de minerales y otros compuestos inorgánicos en este residuo, como indican Lavanya et al (2022) y Torres-Álvarez et al (2022), que las cascaras de plátano contienen altos niveles de potasio, magnesio y otros minerales. Asimismo, el contenido de sólidos volátiles y cenizas de los extractos PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP (Tabla 6) reflejarían el balance entre la naturaleza orgánica e inorgánica de los residuos utilizados en las mezclas. Cotejando los reportes de estudios previos de Aguirre-Forero et al (2022), que la combinación de diferentes residuos agroindustriales puede resultar en una mezcla más equilibrada en términos de composición de sólidos, lo que puede influir en su comportamiento como sustrato en procesos biotecnológicos.

Para el contenido de nitrógeno Kjeldahl los resultados muestran que el extracto PT reportó el mayor contenido de nitrógeno total (Tabla 6), lo cual podría estar relacionado con la mayor cantidad de compuestos nitrogenados presentes en este tipo de residuo, como proteínas y aminoácidos esenciales (Lavanya et al., 2022). Por otro lado, el porcentaje más bajo de nitrógeno fue del extracto de cáscara de naranja (NA) y podría estar ligado a su bajo contenido proteico, como se indica en otros estudios que las cascaras de cítricos contienen menos nitrógeno en comparación con otros residuos agroindustriales (Carota et al., 2020; Koochi et al., 2023). Finalmente, la variabilidad en el contenido de nitrógeno entre los extractos subraya la importancia de seleccionar residuos con contenido óptimo de nutrientes. En nuestro caso, la combinación de diferentes residuos parece ser una estrategia efectiva para mejorar la disponibilidad de nitrógeno y otros nutrientes esenciales en los extractos, lo que beneficiaría a la viabilidad del proceso de síntesis de EPS.

6.4. Crecimiento y consumo de azúcares de *R. mucilaginosa* UANL.

Las cinéticas del crecimiento de *R. mucilaginosa* UANL-001L, revelan que los extractos de las cascaras de plátano, naranja y papa y sus combinaciones (PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP), proporcionan un entorno adecuado para el crecimiento de esta levadura, aunque ligeramente inferior al del medio YM (Figs. 16A, 16B, 16C, 16D, 16E, 16F y 16G). Esta conducta pudiera atribuirse al contenido y disponibilidad de los nutrientes en los extractos para ser absorbidos por la cepa microbiana y permita su adaptación y desarrollo óptimo (Machado et al., 2022). Así también, el crecimiento inferior en los medios derivados de cáscara de papa (Figs. 16D, 16F y 16G), podría asociarse con un menor contenido o accesibilidad de nutrientes y azúcares necesarios para la levadura (Chaturvedi et al., 2018; Ghilardi et al., 2020). Por último, todas las cinéticas de crecimiento de *R. mucilaginosa* UANL-001L en los distintos extractos (Figs. 16A, 16B, 16C, 16D, 16E, 16F y 16G), presentaron un comportamiento propio de la evolución de esta cepa (Ghilardi et al., 2020; Vázquez-Rodríguez et al., 2020).

De igual manera, el patrón de consumo de azúcares reductores por *R. mucilaginosa* UANL-001L (Figs. 16A, 16B, 16C, 16D, 16E, 16F y 16G), sugiere que las primeras 48 h son críticas para la absorción de estos compuestos, coincidiendo con la fase exponencial de *R. mucilaginosa*, etapa donde presenta su mayor capacidad de absorción de nutrientes (Martins et al., 2021; Rodrigues et al., 2019; Torres-Álvarez et al., 2022). Asimismo, los azúcares reductores de mayor disponibilidad para ser absorbidos como fuente de carbono para el crecimiento de *R. mucilaginosa* son los monosacáridos y disacáridos (da Silva et al., 2020; Prabhu et al., 2019). Por ende, el alto contenido y la disponibilidad de azúcares especialmente glucosa, fructuosa y sacarosa en los extractos de las cascaras de plátano, naranja y papa, pudieron favorecer al desarrollo adecuado de *R. mucilaginosa* UANL-001L y la síntesis de metabolitos (Ayala et al., 2021; El Kantar et al., 2018; V. B. Kumar et al., 2016; Martínez-Trujillo et al., 2020; Palacios et al., 2017).

Las imágenes microscópicas de la Figura 17, comprueban que los extractos de las cascaras de plátano, papa y naranja, solas y combinadas no solo

favorecen al crecimiento de *R. mucilaginosa* UANL-001L, sino que también estimulan la síntesis de EPS con diversas aplicaciones industriales. Pudiendo observar también, que las células de la levadura mostraron una morfología típica de blastoconidios esferoidales a ovalados sin estructuras hifales y rodeadas de sustancias poliméricas extracelulares (EPS), alineándose con las características propias esta especie de *Rhodotorula* (Garza et al., 2016; Nunes et al., 2013). Además, la presencia considerable de células a las 96 h en los extractos NA y PT/NA, puede ligarse a la disponibilidad de nutrientes en estos extractos en particular o la eficiencia de su utilización de la levadura (Martins et al., 2021).

6.5. Producción y caracterización elemental de la biomasa de *R. mucilaginosa* UANL-001L.

Los resultados sugieren que la combinación de las cascaras de plátano, naranja y papa (PT/NA/PP) proporciona un entorno óptimo para el desarrollo y producción de biomasa de *R. mucilaginosa* UANL-001L, alcanzando la mayor concentración (2.14 g/L) después de 96 h de incubación. Esto es coherente con estudios previos, donde reportan que los residuos de plátano y las frutas cítricas son ricos en compuestos que promueven el crecimiento microbiano al mejorar la biodisponibilidad de nutrientes esenciales (Banerjee et al., 2021; Prabhu et al., 2019). Por otro lado, la producción significativamente menor de biomasa en el medio PT/PP indica que las cascaras de papa pueden tener limitaciones en cuanto a su capacidad para proporcionar nutrientes esenciales, en comparación con los extractos que combinan residuos de diferentes frutas.

Con respecto a la composición elemental de la biomasa, el alto contenido de carbono en los medios PT/NA y PT/NA/PP (Figura 19) puede estar asociado al alto contenido de azúcares presentes en las cascaras de naranja, lo que favorece el metabolismo de la levadura y la acumulación de biomasa rica en carbono. Contrastando investigaciones que resaltan el potencial de los residuos cítricos para la producción de biomasa microbiana gracias a su alta disponibilidad de azúcares simples (Banerjee et al., 2021). Las diferencias en la concentración

de hidrógeno y nitrógeno de los extractos también podrían destacar variaciones en la composición nutricional de las cascaras, donde la combinación PT/PP parece proporcionar una mayor concentración de nitrógeno esencial para la síntesis de proteínas microbianas. Por último, la ausencia de diferencias significativas para el azufre, indica que este elemento estaba presente en cantidades similares en los extractos, debido a que en los medios de residuos vegetales la concentración de azufre tiende a ser constante (Prabhu et al., 2019).

6.6. Monosacáridos presentes en los extractos combinados.

La presencia de maltosa en los extractos combinados PT/NA, PT/PP, y PT/NA/PP después de 96 h de incubación, indica que este disacárido es resistente y de lenta absorción por *R. mucilaginosa* UANL-001L a las condiciones específicas de evaluación de los extractos. Corroborando las afirmaciones de Pereira et al (2018), que ciertas levaduras tienen una baja eficiencia para metabolizar disacáridos complejos como la maltosa, lo que explicaría su persistencia tras 96 h de incubación con la levadura. De igual forma, la fructosa detectada en PT/NA (1500 mg/L) podría revelar que *R. mucilaginosa* UANL-001L no tiene la capacidad de aprovechar la fructosa disponible de manera tan eficiente como otros azúcares, debido a que, la velocidad de digestión de los azúcares simples puede variar ampliamente en función de la fuente de carbono y las condiciones de crecimiento del microorganismo (Witczak et al., 2017).

6.7. Producción de carotenoides totales.

Los resultados de la figura 20 muestran la producción de carotenoides extraídos de la biomasa *R. mucilaginosa* UANL-001L, cultivada con los extractos de residuos agroindustriales (cascaras de plátano, papa y naranja) y el medio YM. Observando en primer lugar, que el YM se destaca como el más efectivo para la producción de carotenoides, tanto en términos volumétricos (5.7 mg/L) como celulares (23.1 µg/g de levadura seca). Esto se atribuye a que el YM posee los nutrientes y las condiciones necesarias para el metabolismo de la levadura y por ende la biosíntesis de carotenoides (Garza et al., 2016; Vázquez-Rodríguez

et al., 2018). En cuanto a los extractos de cascaras, el extracto NA reportó la mayor producción de carotenoides totales, alcanzando 21.9 µg/g y 5.5 mg/L. Indicando también que, el alto contenido de compuestos orgánicos de la cáscara de naranja favorece al desarrollo adecuado de *R. mucilaginosa* y la biosíntesis de carotenoides (Carota et al., 2020).

Por su parte, los extractos combinados PT/NA, PT/NA/PP y PT/PP y el PT, lograron rendimientos intermedios, pudiendo revelar la formación de interacciones químicas que dificultan la absorción de nutrientes de la levadura y la pigmentación de la biomasa al mezclar los residuos (Kanzky et al., 2015). A excepción del extracto de cáscara de papa (PP), todas las muestras analizadas reportaron producciones de carotenoides volumétricos superiores a los reportados (1.58 mg/L) por Torres-Álvarez et al., (2022) utilizando un extracto de cáscara de plátano, después de 96 h de incubación y también a los valores obtenidos de la inoculación de *R. mucilaginosa* en suero de leche con 2.87 mg/L y 372 µg/g (Kanzky et al., 2015).

Para la evaluación espectrofotométrica de los carotenoides sintetizados por *R. mucilaginosa* UANL-001L, a partir de los extractos de cascaras de plátano, papa y naranja y los espectros generados reportan la presencia de picos notables en el rango de 200 a 300 nm, que pueden prever la presencia de precursores como polienos, fitoenos (286), fitofluenos (348) y otros compuestos con la capacidad de absorber luz en la región ultravioleta y visible, lo que puede influir en la estabilidad y la síntesis de carotenoides (Meléndez-Martínez et al., 2019). La presencia de un pico claro y prominente en el rango de 450 a 550 nm en todos los espectros (Figs. 21A, 21B, 21C, 21D, 21E, 21F y 21G) indica la síntesis efectiva de carotenoides, lo que confirmaría la capacidad de *R. mucilaginosa* UANL-001L para producir carotenoides con la misma composición a partir de cualquier fuente de nutrientes, variando únicamente en la intensidad del compuesto (Kieliszek et al., 2023; Torres-Álvarez et al., 2022). En el pico de 450 a 550 nm también se detectó la presencia de los carotenoides más relevantes

sintetizados por *R. mucilaginosa* como el Betacaroteno, Toruleno y la Torularodina, con absorbancias de 450, 490 y 510 nm respectivamente, que se caracterizan por su alto poder antioxidante (Z. Li et al., 2022; Mattos et al., 2022).

Por otro lado, la evaluación morfológica de la biomasa de *R. mucilaginosa* UANL-001L cultivada en los extractos de PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP, PT/NA/PP y YM, mediante SEM reveló que las células poseen una morfología típica de blastoconidios esferoidales a ovalados, con variaciones notables en la estructura superficial dependiendo del sustrato utilizado (Garza et al., 2016). Así también, las microscopías de baja magnificación (100x) evidenciaron una mayor densidad de partículas en los medios basados en residuos, especialmente en los extractos PT y PP, que exhibieron partículas más finas y ramificadas. A diferencia de las células en el extracto de cáscara de naranja (NA) que presentaron mayor tamaño y apariencia más rocosa (Figura 22). Además, en los mayores aumentos (1 KX y 5 KX), se visualizaron diferencias más pronunciadas en la compactación y aglomeración celular. Los extractos NA, PP y PT/NA/PP exhibieron estructuras más aglomeradas, mientras que, los medios YM, PT, PT/NA y PT/PP presentaron células más dispersas y menos compactas. Resaltando la porosidad y los posibles signos de ruptura celular en las células del extracto PT y NA (Figura 22). Todas variaciones observadas en la estructura celular de las distintas biomasas de *R. mucilaginosa*, podría estar directamente relacionadas a la composición específica (presencia y ausencia de nutrientes) de cada uno de los sustratos usados como fuente de carbono y nutrientes para el crecimiento de la levadura o a la baja absorción y eficiencia para utilizar los nutrientes existentes (Banerjee et al., 2021; Pereira et al., 2018; Witczak et al., 2017).

6.8. Producción de EPS de las cascarras de plátano, papa y naranja.

En la Figura 23 se puede observar la variabilidad en la producción de exopolisacáridos (EPS) de *R. mucilaginosa* UANL-001L a partir de los extractos combinados de las cascarras de plátano, papa y naranja, dependiendo de las

concentraciones y variables de inoculación. Registrando los valores más altos de producción de EPS los extractos de PT/NA (50/50) a 100 g/L y PT/NA/PP (50/25/25) a 200 g/L, con 470 mg/L y 476 mg/L respectivamente (Figura 23). Estos resultados pueden estar ligados a las diferentes composiciones y las variables a las que fueron sometidos estos extractos. Ya que estudios similares señalan que tanto la síntesis, como la funcionalidad de los EPS pueden presentar alteraciones, incluso con pequeñas variaciones en la temperatura de incubación, la concentración y composición del medio de cultivo (Torres-Álvarez et al., 2022; Garza-Cervantes et al., 2019).

Pese a que, entre los dos tratamientos con mayor producción de EPS, no se observó diferencias significativas, estos tuvieron distintos porcentajes de producción, siendo 15 % para PT/NA a 100 g/L y 7 % para PT/NA/PP a 200 g/L. Además, se debe destacar que todos los extractos combinados PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP registraron sus mayores rendimientos de EPS a la concentración de 100 g/L, con 15 %, 12 % y 9% respectivamente (Figura 24). Ratificando el hallazgo de Torres-Álvarez et al., (2022) en su estudio, donde afirman que la concentración óptima de un extracto a base de cáscara de plátano para la síntesis de EPS es de 100 g/L, debido a que con valores inferiores y superiores a esta concentración obtuvieron rendimientos más bajos.

Se realizó también la extracción de EPS individual de las cascaras de plátano, papa, naranja y del medio YM, para evaluar la viabilidad de los extractos por separado para la síntesis de EPS. Encontrando que al utilizar la cáscara de naranja (NA) sola como sustrato la producción de EPS es dos veces mayor a la producción obtenida con cascaras de plátano, papa y el YM (Figura 25), pudiendo atribuirse este hallazgo al alto contenido de compuestos orgánicos y nitrogenados de la cáscara de naranja (Aguirre-Forero et al., 2022). Estos resultados motivaron a la continuidad de este estudio utilizando los extractos individuales y combinados de los residuos para la síntesis de EPS.

En la Figura 26 se presenta la producción de EPS de los extractos individuales y combinados de las cascaras de plátano, papa y naranja y del medio YM como control. Los resultados obtenidos revelaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre la producción de EPS de los extractos de NA, PT/NA y PT/NA/PP comparado a la producción del YM. El extracto NA también registró el valor más alto de producción de EPS alcanzando 860 mg/L. Resaltando el potencial de la cáscara de naranja para ser usada como fuente de nutrientes para la síntesis de EPS de *R. mucilaginosa* UANL-001L, duplicando incluso la producción del YM (416 mg/ L) que posee la composición óptima para el desarrollo de esta levadura (Garza-Cervantes et al., 2019; Vázquez-Rodríguez et al., 2018, 2020).

Por su parte, los extractos de las cascaras de plátano (PT), papa (PP) y las combinaciones PT/NA y PT/PP con producciones de 391, 358, 469 y 383 mg/L respectivamente, obtuvieron valores similares a los reportados previamente por Torres-Álvarez et al (2022) entre 417.4 y 404.5 mg/L, empelando el extracto de cáscara de plátano y el YM como fuente de nutrientes para la misma levadura. Además, el extracto PT/NA/PP, pese a su alto contenido de sólidos totales, reportó la producción de EPS más baja (273 mg/L) y significativamente diferente a los demás extractos (Figura 26). Pudiendo atribuirse este evento a la presencia de compuestos con interacciones de baja absorción formados por la mezcla de los residuos (Jeddou et al., 2016; Oliveira et al., 2017; Quilez-Molina et al., 2023).

6.9. Caracterización morfológica de los EPS.

Las microscopías del SEM mostradas en la Figura 27, permiten observar las variaciones significativas en la morfología y estructura de los EPS sintetizados de los extractos PT, PP, NA, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP. Estas diferencias en las morfologías pudieran reflejar la influencia de la composición química de los residuos en la formación y disposición de las partículas de los EPS (Garza-Cervantes et al., 2019). El EPS del extracto PT se caracterizó por su estructura irregular y fragmentada en magnificaciones bajas (50x), pero a mayor aumento (200x y 1,00 KX) muestra superficies más lisas y bordes definidos. Esta tendencia

podría estar relacionada con la composición rica en celulosa y otros polisacáridos propios de la cáscara de plátano, los cuales pueden formar estructuras más cohesionadas y uniformes a niveles microscópicos (Bishnoi et al., 2023).

En el caso del EPS NA, las partículas grandes y menos irregulares en todas las magnificaciones, le confieren una estructura uniforme y superficies lisas a 1 y 5 KX, atribuyendo a la composición de la cáscara de naranja, rica en pectinas y polisacáridos solubles, que promueven una formación más homogénea del EPS y mejorando su estabilidad estructural (Yaradoddi et al., 2022). Por otro lado, las partículas del EPS de cáscara de papa (PP) estuvieron más fragmentadas y desorganizadas, con bordes poco definidos. Y los EPS de las combinaciones presentaron características intermedias logrando una mejor uniformidad de las partículas y superficies lisas. Estos resultados revelan la enorme influencia de las propiedades químicas de los diferentes residuos en la morfología de los metabolitos como el EPS (Coimbra et al., 2023; V. Kumar et al., 2023). Finalmente, la morfología de todos los EPS de residuos presentaron características similares a la morfología de EPS de YM reportado en estudios previos (Garza et al., 2016; Vázquez-Rodríguez et al., 2018).

6.10. Grupos funcionales de los EPS (FTIR).

La información acerca de los grupos funcionales presentes en los EPS a de las cascaras de plátano, papa y naranja se obtuvo mediante un análisis FTIR, encontrando espectros y grupos funcionales de interés similares en todos los EPS analizados (Figura 28). El EPS de YM presento estiramientos característicos de este bioplástico con picos de $3600-3200\text{ cm}^{-1}$ del grupo hidroxilo (O-H), 2900 cm^{-1} del metilo (C-H), $1650-1540\text{ cm}^{-1}$ de los grupos enol y amina, 1350 cm^{-1} DEL carboxilo (C=O), 1250 cm^{-1} del alqueno (C=C) y $1000-1200\text{ cm}^{-1}$ de los grupos C-O, C-C, C-O-C y C-O-H (Garza-Cervantes et al., 2019; Liu et al., 2016; Vázquez-Rodríguez et al., 2018). El EPS de PT adicional a los estiramientos de los grupos funcionales presentes en el espectro del YM, también presentó un pico muy pronunciado a 500 cm^{-1} el cual corresponde al Si-O (Figura 28). Este compuesto

pudo haber sido transferidos del sustrato y destacaría la importancia e influencia de los metales como el silicio, potasio, magnesio y otros metales en la cáscara de plátano (Kamsonlian et al., 2011; Mohd Zaini et al., 2022; Radha et al., 2023).

El EPS NA mostró bandas típicas de un polisacárido con menor intensidad en la región de $3650\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ y 1900 cm^{-1} (H-O y C-H), y mayor pronunciamiento de $1150\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ que corresponde a grupos aromáticos C-O-C y C-O-H. Mientras que, en el EPS PP se observó estiramientos menos pronunciados que el NA en la región de los grupos O-H y C-H ($3650\text{-}3000$ y 1900 cm^{-1}), picos más notables en el área de los grupos amino y carboxilo ($1600\text{-}1250\text{ cm}^{-1}$) y su mayor pico en la región de los grupos C-O-C y C-O-H característica propia este sustrato (Figura 28). Los espectros resultantes de los EPS de las cascaras de naranja y papa presentaron las bandas características de las propiedades químicas de los mono y polisacáridos propios de estos residuos, de acuerdo con los reportes de otras bibliografías (P. jun Li et al., 2015; Ma et al., 2022; Rehman et al., 2015; Toprakçı et al., 2023).

Adicionalmente, los extractos combinados PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP presentaron los picos observados a lo largo del espectro del EPS de cáscara de plátano incluido el pico 500 cm^{-1} que pertenece al Si-O (Figura 28). Estos resultados fueron análogos a los hallazgos de otros autores a cerca de los espectros FTIR resultantes del uso de las cascaras de plátano, naranja y papa individuales y combinadas (Chandrasekar et al., 2023; Kamsonlian et al., 2011; Lopes et al., 2021; Sucheta et al., 2019).

6.11. Caracterización elemental CHNS de los EPS.

Con base en los resultados del análisis elemental de los EPS de las cascaras de plátano, papa y naranja comparado al medio YM (Figura 29), podemos afirmar que el carbono (C) es el elemento con mayor abundancia en la composición de todos los EPS PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP y YM.

Siendo el hidrógeno (H) el segundo compuesto de mayor relevancia en la estructura de los EPS, seguido nitrógeno (N), mientras que, el azufre no fue detectado en ninguna de las muestras. Estos resultados concuerdan con los reportes de estudios previos realizados por Vázquez-Rodríguez y compañía (2018) donde señalan que en la estructura de los EPS principalmente del YM, el 100 % de la composición elemental está constituida por carbono, hidrógeno y nitrógeno, con ausencia del azufre.

6.12. Composición de monosacáridos en los EPS.

El análisis de HPLC de los EPS sintetizados de las cascaras de plátano, papa, naranja y del YM (Tabla 10), demostraron que la fucosa y la galactosa fueron monosacáridos constantes en todos los EPS e indiferentes al sustrato. Estos azúcares también reportaron tiempos de retención y concentraciones similares en los EPS, corroborando las revelaciones de Garza et al (2016) y Vázquez-Rodríguez et al (2018) donde indican que, los monosacáridos de mayor constancia en la composición de los EPS sintetizados por *R. mucilaginoso* UANL-001L son la fucosa y galactosa, sin importar la naturaleza de las fuentes de nutrientes utilizadas. Del mismo modo, la fructosa y el ácido galacturónico fueron los azúcares medianamente constantes en los EPS, a excepción del PT que no reportó fructuosa y los EPS de NA y PT/NA/PP no tuvieron ácido galacturónico, estos hallazgos se cotejan con los alegatos de Torres-Álvarez et al (2022), afirmando la ausencia de fructosa y la gran relevancia del ácido galacturónico en la estructura del EPS resultante de la cáscara de plátano.

Por su parte, la maltosa y la glucosa fueron detectadas únicamente en los extractos PP y PT/PP, pudiendo atribuirse al alto contenido de compuestos carbonados del EPS de la cáscara de papa. Por último, el sorbitol estuvo presente solo en los EPS de YM y PP (Tabla 10). En conjunto, los resultados obtenidos destacan los efectos de la naturaleza de los sustratos en la composición los metabolitos como los EPS (Coimbra et al., 2023; V. Kumar et al., 2023; Torres-Álvarez et al., 2022; Yaradoddi et al., 2022).

6.13. Peso molecular de los EPS.

Mediante la técnica de exclusión por tamaño, se consiguieron los pesos moleculares de cada uno de los EPS de cascaras de plátano, papa, naranja. Encontrando variaciones de los pesos moleculares de los EPS de residuos en comparación con el EPS de YM y los patrones de referencia de pulúlanos (Figs. 30A y 30B). Además, los tiempos retención de los EPS a base de cascaras (12 y 14 min) fueron menores que los tiempos de detección del peso molecular del YM y de los pulúlanos (17 a 20 y 15 a 25 min respectivamente). Estos resultados indicarían que los EPS de los residuos tienen pesos moleculares más altos que el EPS de YM y los polímeros de referencia. Validando los alegatos de otros autores, de que la naturaleza de los sustratos tiene influencia directa en la composición final de los EPS, y que además el EPS de YM tiene un peso molecular de 18.85 kDa, mientras que, el EPS de cáscara de plátano reportó un peso de 76.14 kDa (Torres-Álvarez et al., 2022; Vázquez-Rodríguez et al., 2018).

6.14. Tamaño de partícula de los EPS.

En las Figuras 31A y 31B se muestran los resultados del tamaño de partícula de los EPS de las cascaras de plátano, papa y naranja y del YM. Visualizando notables diferencias entre los tamaños de partícula de todas las muestras analizadas. Así los EPS de PT y del combinado PT/PP reportaron los tamaños de partícula más grandes con 665 nm y 529 nm respectivamente, pudiendo atribuirse a la formación de agregados en la estructura de estos EPS. Este comportamiento podría también estar vinculado a la composición de la cáscara de plátano, ya que los EPS derivados de esta reportaron altos pesos moleculares (Sengupta & Sarkar, 2022; Torres-Álvarez et al., 2022).

Por otro lado, pese a que el EPS de NA registró el tamaño de partícula más pequeño (175 nm) y una distribución de datos más homogénea, su peso molecular fue superior al peso molecular del EPS de YM, esto podría deberse a la formación de aglomerados de partículas pequeñas e influiría en su baja solubilidad en agua. La presencia de aglomerados también, se evidenciaron en

los EPS de YM, PP, PT/NA y PT/NA/PP, ya que a pesar de registrar tamaños de partículas (198 y 323 nm) muy inferiores a los tamaños del PT y PT/PP, presentaron pesos moleculares similares a estos EPS (Figs. 30B, 31A y 31B, destacando las particularidades prometedoras de las cascaras de plátano, papa y naranja (Castañeda-Figueroa et al., 2022; Sengupta & Sarkar, 2022).

6.15. Presencia de aminoácidos libres en los EPS.

La presencia de aminoácidos libres en los distintos EPS de residuos y del YM, evaluado por el método de FAN, se presenta en la Figura 32. Donde se encontró que el EPS de YM registró el mayor contenido de aminoácidos libres con 1.25 mg/g, pudiendo atribuirse a la formulación rica en nutrientes del medio YM (Garza et al., 2016; Vázquez-Rodríguez et al., 2018). Contrario a este el EPS del extracto PT obtuvo el valor más bajo de aminoácidos en su estructura pudiendo explicarse este comportamiento con su bajo contenido de compuestos nitrogenados (V. Kumar et al., 2023). Además, de todos los EPS a base de residuos el EPS del PP presentó el valor más alto (1.14 mg/g) de aminoácidos libres, posiblemente por la naturaleza del almidón y las proteínas presentes en la cáscara de papa, que podrían liberarse durante la síntesis de EPS (Peksa et al., 2021). El EPS de PT/NA/PP también reportó un contenido alto (1.07 mg/g) de aminoácidos, sugiriendo que la mezcla de residuos favorece la disponibilidad de aminoácidos libres en los EPS. Finalmente, los EPS de PT, NA, PT/NA y PT/PP registraron valores menores a 1 mg/g, indicando su bajo contenido de aminoácidos, quizá por la menor presencia de compuestos nitrogenados en las cascaras de plátano y naranja (Ayala et al., 2021; Kamsonlian et al., 2011).

6.16. Efecto antimicrobiano y antibiopelícula de los EPS.

Con base en estudios previos que afirman que los EPS sintetizados por *R. mucilaginosa* UANL-001L a partir del medio YM, tienen efectos antimicrobianos relevantes contra distintas bacterias Gram negativas y positivas, con MIC > 2.50 mg/mL (Garza-Cervantes et al., 2019; A. Vázquez Rodríguez et al., 2019). Se determinó la concentración mínima inhibitoria (MIC) de los EPS de PT/NA, PT/PP

y PT/NA/PP expuestos a diferentes concentraciones y variables de inoculación contra *E. coli*, obteniendo los mejores resultados de inhibición con los extractos combinados PT/NA y PT/PP (50/50) a la concentración de 100 g/L, con sus MIC > 2.50 mg/mL, comparado a los demás tratamientos que reportaron sus MIC por encima de los 3.00 y 6.00 mg/mL (Tabla 11).

Se evaluó también la actividad antimicrobiana (MIC) de los EPS de los extractos individuales y combinados de las cascaras PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP y del medio YM como referencia, contra las bacterias *E. coli* y *S. aureus* (Tabla 12 y Figs. 33A-G). Encontrando que para el caso de *E. coli*, los EPS de NA y PP obtuvieron los mejores resultados de inhibición pues, aunque las MIC fueron generalmente altas (> 2.50 mg/mL), estos EPS disminuyeron el crecimiento de *E. coli* a menos del 10 % en comparación con el control positivo (Tabla 12 y Figs. 33C y 33D). Esto podría deberse a la presencia de compuestos bioactivos como pectinas, flavonoides y polisacáridos en la estructura de estos EPS que les proporcionan su capacidad antimicrobiana (Jiménez-Champi et al., 2023; Maqbool et al., 2023). Asimismo, los EPS de PT, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP reportaron inhibiciones significativas con su concentración (> 2.50 mg/L) logrando reducir el crecimiento de *E. coli* a menos del 25 % en todos los casos, incluso siendo más eficientes que el YM quien a la misma concentración, logro reducir el crecimiento de *E. coli* por debajo de 40 % (Tabla 12 y Figs. 33A, 33B, 33E, 33F y 33G). Estos resultados concuerdan con los hallazgos de Garza-Cervantes et al (2019); Vázquez-Rodríguez et al (2019) en estudios previos, donde señalan que el EPS producido por *R. mucilaginosa* UANL-001L a partir de YM disminuye el crecimiento de *E. coli* a menos del 40 %.

Por otro lado, frente a *S. aureus* (SaR), el EPS combinado de las cascaras de plátano y naranja (PT/NA) presento el mayor efecto antimicrobiano, con una MIC de 1.25 mg/mL, comparado con los otros EPS, lo que sugiere una sinergia fuerte entre los compuestos bioactivos presentes en ambos residuos. Así también, los EPS de PT y NA lograron inhibir por completo el crecimiento de *S.*

aureus con su dilución de 2.50 mg/mL (Tabla 12 y Figs. 34B, 34C y 34E). Demostrando que tanto los componentes de la cáscara de plátano como los de naranja poseen propiedades antimicrobianas, aunque son más eficaces cuando se combinan, y su potencial antimicrobiano podría estar dada por la sinergia entre sus polisacáridos y compuestos secundarios (Maqbool et al., 2023; Mohd Zaini et al., 2022; Nazren et al., 2014). Por último, los EPS del PP, PT/PP, PT/NA/PP y YM, pese a no lograr una inhibición completa del *S. aureus*, con sus diluciones de 2.50 mg/mL, disminuyeron significativamente el crecimiento a menos del 11, 21, 27 y 30 % respectivamente (Tabla 12 y Figs. 34A, 34D, 34F y 34G). Estos resultados destacan la viabilidad antimicrobiana de los EPS *R. mucilaginosa* UANL-001L, dependiendo de la fuente de nutrientes. Y que el EPS de YM posee mayor inhibición contra *S. aureus*, logrando reducir su crecimiento hasta por debajo de 35 % (Garza-Cervantes et al., 2019; Vázquez-Rodríguez et al., 2018).

Para el caso del efecto antibiopelícula de los EPS de las cascarras de plátano, papa y naranja y del YM, frente a *E. coli* y *S. aureus* (Figs. 35 A-G). Podemos ver que el EPS de PT/NA reportó mayor efecto de antibiopelícula contra *E. coli*, consiguiendo inhibir completamente las biopelículas a partir de su dilución de 0.16 mg/mL (Figura 35E), resaltando nuevamente el potencial de la sinergia entre los compuestos bioactivos de las cascarras de plátano y naranja. Los EPS NA y PP también tuvieron efectos antibiopelícula eficientes logrando inhibir la formación de *E. coli*, a partir de su concentración de 0.31 mg/mL (Figs. 35C y 35D). Estos resultados destacarían la eficacia antimicrobiana de los compuestos bioactivos presenten en los residuos y que podrían ser transferidos a los EPS (Jiménez-Champi et al., 2023; Maqbool et al., 2023). Por su parte, los EPS de PT y PT/NA/PP presentaron efecto antibiopelícula frente a *E. coli* a partir de la concentración de 0.63 mg/mL, mientras que, los EPS de PT/PP y YM reportaron su efecto con sus diluciones 1.25 mg/mL para PT/PP y 2.50 mg/mL para YM.

Adicionalmente, en las Figuras 36A-G podemos observar el efecto antibiopelícula contra *S. aureus* (SaR) de cada uno de los EPS analizados. Donde

encontramos que los EPS de PT, NA, PT/NA y PT/NA/PP fueron los más eficientes contra las biopelículas de *S. aureus*, consiguiendo una inhibición completa desde la dilución 0.31 mg/mL (Figs. 36B, 36C, 36E y 36G). También, los EPS del PP, PT/PP y YM lograron inhibir las biopelículas a partir de su dilución de 0.63 mg/mL. Los resultados obtenidos sugieren el uso de EPS de las cascarras de plátano, papa y naranja, como una estrategia prometedora para combatir infecciones por bacterias resistentes y no como *S. aureus* y *E. coli*. Además, resaltan el alto valor de los residuos agroindustriales como una alternativa sostenible y económica para el desarrollo de agentes antibacterianos y potenciales recubrimientos con propiedades antibiopelículas (Kanmani & Rhim, 2014a; Mpofo et al., 2023; Nazren et al., 2014).

6.17. Películas delgadas de EPS de las cascarras de plátano, papa y naranja.

Las Figuras 37A-F muestran las películas elaboradas con los EPS de las cascarras de plátano, papa y naranja solas y combinadas. Donde podemos apreciar la viabilidad de cada EPS para ser usado en la elaboración de películas delgadas y las diferencias entre sus propiedades superficiales, que pueden estar relacionadas con la naturaleza de los sustratos. Las películas de los EPS NA y PT/NA mostraron superficies más homogéneas y transparentes, lo que sugiere que estos EPS tienen una estructura molecular más uniforme, favoreciendo la formación de recubrimientos más estables y atractivos (Figs. 37A y 37D). La película de NA, siendo la más transparente, destaca como material prometedor para aplicaciones que requieren barreras visuales o embalajes biodegradables (Alancherry et al., 2018; Cazón et al., 2022; Chandrasekar et al., 2023). Contrario a las anteriores, las películas de los EPS PP y PT/PP (Figs. 37C y 37E) exhibieron superficies menos homogéneas, quebradizas y de baja transparencia, lo que indicaría una menor cohesión entre las moléculas de estos EPS, probablemente debido a la irregularidad en la distribución de los polisacáridos o a la presencia de impurezas. Limitando su uso en aplicaciones donde se requieren propiedades mecánicas más robustas (Coimbra et al., 2023; Ma et al., 2022). Finalmente, las

películas de PT y PT/NA/PP, aunque parecían más firmes, presentaron un aspecto rugoso y menos transparente, pudiendo ser ventajoso para aplicaciones donde se prioriza la resistencia sobre la estética (Chandrasekar et al., 2023; Radha et al., 2023).

6.18. Morfología superficial y topográfica de los EPS (AFM).

Las características superficiales y topográficas de las películas delgadas de los EPS de PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP, obtenidas por microscopía de fuerza atómica (AFM), se encuentran en las Figuras 38, 39, 40, 41, 42 y 43. Observando en las imágenes en 2D y 3D variaciones notables en la rugosidad y espesor de las películas según el EPS utilizado. La película de PT presentó una textura rugosa con un promedio de rugosidad menor a 3 nm, siendo su mayor rugosidad 2.85 nm en el escaneo de 5 μm y el menor espesor de 31.1 nm a 1 μm (Figura 38). La rugosidad de esta película puede atribuirse a la deficiente homogenización y naturaleza de la muestra, pudiendo favorecer a la formación de aglomerados durante la dispersión de la película (Ghasemlou et al., 2011; Salazar et al., 2021). La rugosidad y espesor de la película de PT también destacarían su capacidad como un recubrimiento útil para aplicaciones que requieran un moderado intercambio de gases, como empaques biodegradables para alimentos (Oliveira et al., 2017; Pharma et al., 2021; Zhang et al., 2020).

La película del EPS de NA por su parte, reportó la rugosidad más alta de todas las películas con valores entre 2.32 y 7.03 nm y con espesores de hasta 109.7 nm (Figura 39). Esta particularidad a parte de la composición del sustrato, pudo deberse a la ausencia de temperatura en la preparación de la muestra, ya que los polisacáridos requieren la adición de calor para mejorar su disolución (Alancherry et al., 2018; Kanmani & Rhim, 2014). Así también, la rugosidad y espesor podrían favorecer su uso en aplicaciones que requieran mayor resistencia mecánica o barrera contra la humedad (Calle et al., 2015; Wang et al., 2019). Por otro lado, la película del EPS PP obtuvo valores de rugosidad entre 4 y 5.5 nm, con un espesor mínimo de 48.5 nm (Figura 40). Los valores de

rugosidad y espesor de esta película pueden estar ligados a su alto contenido de sólidos como los almidones que suelen presentar alteraciones aun en superficies lisas, sin embargo, estas cualidades beneficiarían su uso potencial como recubrimientos aptos para proteger superficies o crear barreras en empaques multicapa (Coimbra et al., 2023; Fonseca et al., 2018; Ma et al., 2022).

La película combinada de PT/NA presentó una superficie más lisa y homogénea, con la menor rugosidad y espesor de todas las películas con 0.21 nm y 6.5 nm respectivamente (Figura 41). Estas características pudieran revelar la afinidad de los compuestos, favoreció el mezclado y distribución de la muestra. Además, su rugosidad y espesor resaltarían su potencial para aplicaciones que requieras texturas más homogéneas y adherentes, como la industria de películas protectoras en biomedicina (De Herrmann et al., 2004; Mwema et al., 2020; Radha et al., 2023). Por último, las películas de PT/PP y PT/NA/PP presentaron topografías más estriadas con prominentes relieves, alcanzando rugosidades de 2.91 y 2.71 nm y espesores entre 53.1 y 24.7 nm respectivamente (Figs. 42 y 43). La existencia de relieves en la superficie de estas películas pudiera estar vinculado con la interacción de los compuestos al momento de realizar la mezcla (Aguilar-Sánchez et al., 2019). Las cualidades rugosas de estas películas podrían ser ventajosos para aplicaciones donde la interacción con otras superficies o la absorción de sustancias sea crítica, como la creación de membranas filtrantes o en sistemas de liberación controlada de compuestos bioactivos (Cazón et al., 2022; Ferreira et al., 2014; Kanmani & Rhim, 2014).

6.19. Permeabilidad de las películas de EPS.

Los resultados de permeabilidad al vapor de agua (WVP) de las películas de EPS de las cascaras de plátano, papa, naranja y sus combinados, reportaron diferencias en la capacidad de las películas para actuar como barreras contra la humedad (Figuras 44A-F). Las películas de los EPS PT y PP tuvieron capacidad de barrera moderada, con valores de WVP de 3.89×10^{-3} y 3.61×10^{-3} g/m·s·Pa (Figs. 44A y 44C). Estas cualidades permeables podrían estar ligadas

a la naturaleza de los sustratos y favorecería a sus aplicaciones en empaques para productos de corta vida útil, o en sectores donde la degradabilidad del material y el control moderado de la humedad son factores clave (Aloui et al., 2014; Fonseca et al., 2018; Oliveira et al., 2017). Así también, la película del EPS de NA (Figura 44B), reportó la WVP más baja (3.05×10^{-3} g/m·s·Pa), indicando una mayor resistencia a la difusión de vapor de agua. Esta conducta puede atribuirse a las propiedades estructurales y químicas de la cáscara de naranja, que generan matrices densas y poco permeables, con aplicaciones en productos sensibles a la humedad (Cazón et al., 2022; Kanmani & Rhim, 2014, 2014).

Por otro lado, las películas de los EPS PT/NA y PT/NA/PP, tuvieron valores intermedios de WVP (3.32×10^{-3} y 3.89×10^{-3} g/m·s·Pa respectivamente (Figs. 44D y 44F). Sus permeabilidades revelan que las combinaciones podrían ofrecer un balance entre la barrera de humedad y transpirabilidad, por lo que estas películas serían útiles en empaques de productos frescos, como frutas y verduras, que requieren el intercambio de humedad para evitar la condensación interna y mantener la protección general del ambiente (Salazar et al., 2021; Silva-Weiss et al., 2014). Finalmente, el valor más alto de WVP, registró la película de PT/PP con 4.44×10^{-3} g/m·s·Pa (Figura 44F), indicando que esta posee menor capacidad de barrera al vapor de agua, pudiendo ser aprovechado en empaques de alta transpirabilidad, como empaques de panadería o productos horneados, donde se requiere evitar el exceso de humedad que podría deteriorar el producto (Fonseca et al., 2018; Nouri & Mohammadi Nafchi, 2014; Zhang et al., 2020).

6.20. Solubilidad de las películas delgadas de EPS en agua y etanol.

En la Tabla 14 y las Figuras 46A y 46B podemos encontrar los valores de solubilidad de las películas de los EPS de PT, NA, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP en agua y etanol. Los resultados de solubilidad en agua confirman las tendencias de WVP de las películas, revelando que todas tienen afinidad por las moléculas de agua, pudiendo ligarse a la naturaleza hidrofílica de los sustratos (Jeddou et al., 2016). La película más soluble en agua fue la del ESP PT con una solubilidad

superior al 60 %, pudiendo ser adecuada para aplicaciones con rápida disolución o biodegradación en ambientes húmedos, como empaques solubles o productos de un solo uso en la industria alimentaria (Chandrasekar et al., 2023; Oliveira et al., 2017). Mientras que, la película del EPS NA fue la menos soluble tanto en agua como en etanol (Tabla 14 y Figs. 46A-B). Con sus cualidades esta película podría ser aplicada en productos con mayor sensibilidad al agua y al alcohol, como envases para líquidos o soluciones alcohólicas (Karakuş et al., 2023; Sucheta et al., 2019). Adicionalmente, las películas de los EPS PP, PT/PP, PT/NA/PP y PT/NA, registraron menor solubilidad en etanol y moderada en agua, pudieran ser adecuadas para aplicarse en productos farmacéuticos o cosméticos, donde la resistencia al agua y la interacción con solventes orgánicos deben ser controladas (Alancherry et al., 2018; Coimbra et al., 2023; Ma et al., 2022).

6.21. Eficacia de inhibición ZOI de las películas de EPS.

La eficacia antimicrobiana mediante los ensayos de la zona de inhibición (ZOI) demostraron que las películas de los EPS de las cascarras de plátano, papa y naranja, exhiben efectos antimicrobianos significativos contra *S. aureus* y *E. coli* (Figs. 46A-B, 46C-D y 47). Todas las películas tuvieron mayor difusión y zonas de inhibición más amplias contra *S. aureus* y *E. coli*, al ser depositadas en solución acuosa sobre el filtro (Figs. 46A y 46C). Mientras que, en el caso de la deposición directa sobre agar, aunque no se observaron halos de inhibición cuantificables, las películas impidieron el crecimiento bacteriano en su superficie, lo que sugiere que, aunque no difundan los compuestos antimicrobianos, actúan como una barrera efectiva (Figs. 46B y 46D). La mayor eficacia antimicrobiana se registró frente *S. aureus*, con excepción de las películas de YM y PT/PP que no mostraron halos notables. Además, las películas de los EPS de NA y PP reportaron los halos más pequeños contra *E. coli*, mientras que la película del EPS PT/NA tuvo la mayor eficacia antimicrobiana frente a ambas bacterias (Figura 47). Estos hallazgos resaltan el potencial las películas para aplicaciones en el envasado de alimentos y productos donde la protección antimicrobiana es crucial, especialmente en productos perecederos, ya que podrían prevenir el

crecimiento de bacterias patógenas en superficies alimentarias, extendiendo así la vida útil (Ferreira et al., 2014; Gniewosz et al., 2014; Nazren et al., 2014).

6.22. Evaluación reológica de los EPS.

En las figuras 48A, 48B, 48C y 48D podemos encontrar las características reológicas de los EPS de las cascavas de plátano, papa, naranja, sus combinados PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP y el medio YM, comparado a las gomas comerciales de referencia (xantana, arábica, guar y pectina), revelando diferencias significativas. Contra la goma xantana, que alcanzó un alto estrés de corte (2.60 Pa) a 100 1/s, los EPS consiguieron valores más bajos, siendo el valor más cercano el del EPS NA con 0.43 Pa, lo que indicaría que los EPS no podrían sustituir a la xantana en aplicaciones donde se requiere una alta resistencia al flujo (Figura 48A). Así también, comparado a la goma arábica, con estrés de corte máximo de 0.55 Pa a 20 1/s, los de EPS NA, PT/NA y PT/PP registraron tendencias más similares, sugiriendo que los EPS podrían funcionar bien en aplicaciones que requieren propiedades de flujo más suaves y estables (Figura 48B). La goma guar, con un estrés de 0.54 Pa, también mostró valores semejantes al estrés de los EPS, especialmente NA (Figura 48C), validando el potencial de los EPS para aplicaciones donde se requiera viscosidades moderadas. Adicionalmente, contra el estrés de corte de la pectina que alcanzó 0.18 Pa a 100 1/s, los EPS de NA, PT/NA y PT/PP superaron este valor con hasta 0.43 Pa (Figura 48D), demostrando que los EPS podrían ser una opción viable para reemplazar la pectina en formulaciones que requieran mayor estrés. Destacando la viabilidad de los EPS, especialmente los de NA, para aplicaciones industriales en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos (Fortunatti-Montoya et al., 2024; Han et al., 2021; Rasidek et al., 2018).

En cuanto a la viscosidad aparente de todos los EPS, se observó que en relación con la goma xantana, que mostró una viscosidad inicial de 0.32 Pa-s, los EPS obtuvieron viscosidades significativamente inferiores, oscilando entre 0.02 y 0.06 Pa-s, resaltando nuevamente con el valor más grande el EPS de NA (Figura

49A). Comprobando que los EPS no pueden igualar a la viscosidad de la xantana, limitando su uso en aplicaciones que demanden alta viscosidad. Asimismo, frente a la goma arábica con viscosidad inicial de 0.22 Pa-s, los EPS de NA y PP fueron los más cercanos con 0.06 y 0.03 Pa-s respectivamente (Figura 49B). Revelando que estos EPS podrían ofrecer propiedades viscosas adecuadas para aplicaciones de moderado espesamiento. Por otro lado, para la goma guar, que registró una viscosidad de 0.04 Pa-s, el EPS de NA superó este valor con 0.06 Pa-s (Figura 49C), sugiriendo que este EPS podría ser una alternativa interesante a la goma guar en aplicaciones con viscosidades moderadas. De igual manera, al comparar con la pectina, con una viscosidad inicial de 0.02 Pa-s, los EPS de NA y PP superaron este valor con 0.03 y 0.06 Pa-s sucesivamente (Figura 49D). Destacando el potencial de estos EPS para reemplazar a la pectina en formulaciones con viscosidad ligera (Fortunatti-Montoya et al., 2024; Han et al., 2021; Jiménez-Champi et al., 2023; Mohd Zaini et al., 2022; Rasidek et al., 2018).

6.23. Crecimiento y consumo de azúcares durante en escalamiento.

El crecimiento y consumo de azúcares reductores de *R. mucilaginosa* UANL-001L, durante es escalamiento a 5 L de los medios YM y NA, reportan una tendencia similar con los dos extractos. En ambos casos, manteniendo un crecimiento constante hasta las 72 h y un máximo de consumo de azúcares registrado en las primeras 48 h, destacando una fase de crecimiento exponencial rápida (Torres-Álvarez et al., 2022). Después de las 72 h, se observan diferencias en el pico de crecimiento, ya que el caso del YM, la levadura mostró un leve crecimiento hasta las 96 h, mientras que, en el extracto NA el crecimiento comenzó a declinar, pudiendo resaltar que el extracto de cáscara de naranja podría tener limitación en sus nutrientes disponibles o una acumulación de subproductos que inhiben el crecimiento. Estos hallazgos destacan la efectividad del extracto NA como sustrato para la producción de biomasa en períodos de tiempo cortos, lo que puede tener implicaciones para su uso en bioprocesos a mayor escala, especialmente en industrias que busquen aprovechar residuos agrícolas como fuentes de nutrientes (Castillo-Patiño et al., 2024).

6.1. Producción de EPS de YM y NA en escala de 200 mL y 5 L.

Los resultados del escalamiento a 5 litros de la producción de EPS de los medios de cultivo YM y NA, muestran una diferencia significativa en el rendimiento, contra la producción a escala de laboratorio 200 mL (Figura 51). En el caso del EPS de YM, el escalado resultó en un aumento en la producción alcanzando 624 mg/L, lo que representa un incremento de 208 mg/L con respecto a la producción a menor escala, pudiendo sugerir que este medio favorece la producción de EPS en mayores volúmenes del cultivo. Atribuyéndose también, a la eficiencia de la agitación que permitió tener una aireación constante dentro en todo el cultivo y por ende un mejor crecimiento de la levadura (Ramos et al., 2021). Por otro lado, con el escalado del extracto NA la producción de EPS fue de 731 mg/L, registrando una disminución de 129 mg/L comparado a la escala de laboratorio, lo que podría indicar que la eficiencia de la producción de EPS en este medio se ve afectada por factores como la disponibilidad de nutrientes, el oxígeno disuelto, la alta acidez del medio, o la acumulación de subproductos en el cultivo (Carota et al., 2020). Sin embargo, a pesar de estos resultados, la producción de EPS de NA sigue siendo superior a la obtenida con el medio YM, lo que destaca su potencial como sustrato económico y sostenible para la producción de biopolímeros, especialmente en procesos que busquen aprovechar subproductos agrícolas y agroalimentarios.

CAPÍTULO 7

7. CONCLUSIONES

- Se demostró que la obtención de EPS de interés industrial utilizando la cáscara de plátano individual y en combinación con otros residuos orgánicos como las cascaras de papa y naranja como sustrato de la levadura *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L es factible, valorando de esta manera el potencial de estos residuos agroindustriales, mediante a transformación en biopolímeros con características funcionales adecuadas para aplicaciones industriales, promoviendo un modelo de economía circular sostenible.

- La hipótesis de esta investigación fue confirmada, ya que la cáscara de plátano sola y combinada con las cascaras de papa y naranja, demostraron ser sustratos eficientes para la síntesis de EPS de *R. mucilaginosa* UANL-001L con características fisicoquímicas y funcionales adecuadas para diversas aplicaciones como biopelículas y agentes antimicrobianos, validando el uso de estos residuos agroindustriales como una fuente viable y sustentable.

- Se determinó que las condiciones óptimas para el crecimiento adecuado y síntesis de EPS de *R. mucilaginosa* UANL-001L en los extractos elaborados con las cascaras de plátano (PT), papa (PP) y naranja (NA) y sus combinados PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP, fueron con la adición del 1 % de inóculo microbiano y 96 h de incubación a 28 °C y 200 rpm, con la adición de 1 % del inóculo microbiano. Además, la producción de stocks de la levadura fue efectiva ya que permitió la viabilidad y estabilidad de las células en todos los extractos, incluido el medio YM utilizado como referencia.

- Mediante la caracterización proximal se demostró que la composición estructural del extracto de cáscara de naranja (NA) fue diferente significativamente ($P < 0.05$) a los extractos PT, PP, PT/NA, PT/PP y PT/NA/PP en cuanto a su contenido de humedad, sólidos volátiles, cenizas y nitrógeno y en el caso de los sólidos totales el extracto PP registró un contenido notablemente superior (20.4 %) al resto de extractos a base residuos.

- Se determinó que el extracto de cáscara de naranja (NA) reportó la mayor producción de EPS (860 mg/L) superando con casi el doble a la producción de los demás medios de cultivo, incluido el YM comercial que lograron producciones entre 273 y 569 mg/L, perteneciendo el valor más bajo al extracto combinado PT/NA/PP.

- Se comprobó con las microscopías de SEM que los EPS de las cascaras de plátano y naranja, solos y combinados presentaron superficies más lisas, con partículas más pequeñas y mejor distribuidas, mientras que los EPS con presencia de la cáscara de papa en su composición mostraron partículas más desorganizadas y superficies fragmentadas. Además, en todos los EPS se reveló la presencia de grupos funcionales clave como hidroxilos y carboxilos típicos de los polímeros, pero los extractos con plátano también presentaron la banda del óxido de silicio Si-O propio de los residuos de plátano.

- Se determinó que los monosacáridos fucosa y galactosa estuvieron presentes en todos los EPS y en concentraciones similares. Así también, los altos pesos moleculares de los EPS y su morfología diversa estarían relacionados con el tamaño de partícula de cada polímero, pues en el caso del extracto combinado PT/PP obtuvo un alto peso molecular, irregularidades notables en la superficie y su tamaño de partícula fue el

más grande con 665 nm. Mientras que, el extracto NA mostro una apariencia más lisa, su peso molecular fue intermedio y su tamaño de partícula fue el más bajo (175 nm).

- Se demostró que los EPS obtenidos de las cascaras de plátano, papa y naranja solos y en combinación son aptos para la producción de películas delgadas de recubrimiento, presentando las mejores características visuales y estéticas la película del EPS NA. También, comprobó que los EPS de los residuos encabezado por NA, poseen propiedades reológicas prometedoras y podría sustituir a las gomas comerciales principalmente a la goma guar y la pectina.

- Se demostró que el proceso de escalamiento favorece la producción de EPS utilizando como sustrato el medio YM, ya que logro incrementar en 208 mg/L, sin embargo, para el extracto de cáscara de naranja (NA) fue lo contrario ya que la producción de este EPS al escalar disminuyó en 129 mg/L. Pese a todo esto, el EPS NA ha reportado la mayor producción de EPS tanto en 200 mL como en 5 L.

CAPÍTULO 8

8. ANEXOS

8.1. Calendarización.

Tabla 14. Cronograma de trabajo.

ACTIVIDAD	2022												2023												2024											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Planteamiento del problema y estrategias de solución	█																																			
Revisión bibliográfica	█	█	█																																	
Elaboración y entrega del protocolo	█	█	█	█																																
Producción de stock de las cepas microbianas				█	█	█	█	█																												
Preparación y caracterización de los medios de cultivo						█	█	█	█	█	█																									
Producción de EPS microbianos								█	█	█	█	█																								
Caracterización de los EPS													█	█	█	█	█	█	█	█																
Pruebas preliminares de aplicación de los EPS																																				
Escalamiento a 5 L de la producción de EPS																																				
Análisis de resultados																																				
Escritura de tesis																																				
Escritura de artículos y divulgación científica																																				
Revisión y defensa de tesis																																				

CAPÍTULO 9

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Ababaw, G. (2020). Reseña sobre: Sus Potenciales y Aplicación de la Cáscara de Papa (Residuos). *Diario de Acuicultura y Producción Ganadera*, 104(1). [https://doi.org/10.47363/JALP/2020\(1\)104](https://doi.org/10.47363/JALP/2020(1)104)
2. Acosta-Coello, C., Parodi-Redhead, A., & Medina-Pizzali, M. L. (2021). Design and validation of a nutritional recipe for a snack made of green banana peel flour (*Musa paradisiaca*). *Brazilian Journal of Food Technology*, 24, 1–12. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.34919>
3. Aguilar-Sánchez, R., Munguía-Pérez, R., Reyes-Jurado, F., Navarro-Cruz, A. R., Cid-Pérez, T. S., Hernández-Carranza, P., del Carmen Beristain-Bauza, S., Ochoa-Velasco, C. E., & Avila-Sosa, R. (2019). Structural, Physical, and Antifungal Characterization of Starch Edible Films Added with Nanocomposites and Mexican Oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) Essential Oil. *Molecules* 2019, Vol. 24, Page 2340, 24(12), 2340. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES24122340>
4. Aguirre-Forero, S. E., Piraneque-Gambasica, N. V., & Cabarcas-Saumeth, D. E. (2022). Compost de cáscara de naranja: una alternativa de aprovechamiento y ciclaje de materia orgánica en la Región Caribe de Colombia. *Entramado*, 18(1). <https://doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.1.8063>
5. Ahsan Javed , Awais Ahmad , , Ali Tahir , Umair Shabbir , Muhammad Nouman, A. H. (2019). Potato peel waste-its nutraceutical, industrial and biotechnological applications. *AIMS Agriculture and Food*, 4(3), 807–832. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2019.3.807>
6. Alancherry, S., Bazaka, K., & Jacob, M. V. (2018). RF Plasma Polymerization of Orange Oil and Characterization of the Polymer Thin Films. *Journal of Polymers and the Environment*, 26(7), 2925–2933. <https://doi.org/10.1007/S10924-018-1178-7/TABLES/3>
7. Aloui, H., Khwaldia, K., Sánchez-González, L., Muneret, L., Jeandel, C., Hamdi, M., & Desobry, S. (2014). Alginate coatings containing grapefruit essential oil or

- grapefruit seed extract for grapes preservation. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(4), 952–959. <https://doi.org/10.1111/IJFS.12387>
8. Alvarado Martínez, V. (2015). Evaluación del Exopolisacárido Producido por una Bacteria Psicrotolerante Aislada del Noreste de México y sus Potenciales Aplicaciones Industriales. In *Universidad Autónoma de Nuevo León*. [https://www.scoutsecuador.org/site/sites/default/files/%5Bbiblioteca%5D/5.1 Conservacion de alimentos y Recetas sencillas.pdf%0Ahttp://publications.lib.chalmers.se/records/fulltext/245180/245180.pdf%0Ahttps://hdl.handle.net/20.500.12380/245180%0Ahttp://dx](https://www.scoutsecuador.org/site/sites/default/files/%5Bbiblioteca%5D/5.1%20Conservacion%20de%20alimentos%20y%20Recetas%20sencillas.pdf%0Ahttp://publications.lib.chalmers.se/records/fulltext/245180/245180.pdf%0Ahttps://hdl.handle.net/20.500.12380/245180%0Ahttp://dx)
 9. Andrade, C. M., & Ayaviri, V. D. (2017). *Cuestiones Ambientales y Seguridad Alimentaria en el Cantón Environmental Issues and Food Security in Guano*, Ecuador. 28(5), 233–242. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000500022>
 10. Arias, M., Manuel, N., Pérez, S., Lidia, A., Ricalde, C., Yáñez, S., & Manuel, J. (2010). Los microorganismos : pequeños gigantes. *Elementos: Ciencia y Cultura*, 17(77), 15–23. <https://www.redalyc.org/pdf/294/29411989003.pdf>
 11. Ayadi, I., Belghith, H., Gargouri, A., & Guerfali, M. (2019). Utilization of Wheat Bran Acid Hydrolysate by *Rhodotorula mucilaginosa* Y-MG1 for Microbial Lipid Production as Feedstock for Biodiesel Synthesis. *BioMed Research International*, 2019, 11. <https://doi.org/10.1155/2019/3213521>
 12. Ayala, J. R., Montero, G., Coronado, M. A., García, C., Curiel-Alvarez, M. A., León, J. A., Sagaste, C. A., & Montes, D. G. (2021). Characterization of Orange Peel Waste and Valorization to Obtain Reducing Sugars. *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 1348, 26(5), 1348. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26051348>
 13. Banerjee, A., Vithusha, T., Krishna, B. B., Kumar, J., Bhaskar, T., & Ghosh, D. (2021). Pyrolysis of de-oiled yeast biomass of *Rhodotorula mucilaginosa* IPL32: Kinetics and thermodynamic parameters using thermogravimetric analysis. *Bioresource Technology*, 340, 125534. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2021.125534>
 14. Bishnoi, S., Sharma, S., & Agrawal, H. (2023). Exploration of the Potential Application of Banana Peel for Its Effective Valorization: A Review. *Indian Journal of Microbiology*, 63(4), 398–409. <https://doi.org/10.1007/S12088-023-01100-W/METRICS>
 15. Calle, R. M., De, L., Santos, L., Bustamante, A., Angulo, J., & Barnes, C. H. W. (2015). Cristalización y morfología superficial de películas delgadas de Ag/SiO₂ tratadas térmicamente. *Revista de Investigación de Física*, 18, 151802102.

16. Camacho, A., Martínez, L., Ramírez, H., Valenzuela, R., & Vardés, M. (2014). EN EL COMPOSTAJE DE RESIDUOS SÓLIDOS Potential of Different Microorganisms for Solid Waste Composting. *Terra Latinoamericana*, 32(4), 291–300. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792014000400291#:~:text=Los microorganismos que más participan,Farrel y Jones%2C 2009\).](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792014000400291#:~:text=Los microorganismos que más participan,Farrel y Jones%2C 2009).)
17. Carota, E., Petruccioli, M., D'Annibale, A., Gallo, A. M., & Crognale, S. (2020). Orange peel waste–based liquid medium for biodiesel production by oleaginous yeasts. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(10), 4617–4628. <https://doi.org/10.1007/S00253-020-10579-Y/TABLES/4>
18. Castañeda-Figueroa, J. S., Torralba-Dotor, A. I., Pérez-Rodríguez, C. C., Moreno-Bedoya, A. M., & Mosquera-Vivas, C. S. (2022). Removal of lead and chromium from solution by organic peels: effect of particle size and bio-adsorbent. *Heliyon*, 8(8), e10275. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2022.E10275>
19. Castillo-Patiño, D. L., Rosas-Mejía, H. G., Albalade-Ramírez, A., Rivas-García, P., Carrillo-Castillo, A., & Morones-Ramírez, J. R. (2024). Transforming Agro-Industrial Waste into Bioplastic Coating Films. *ACS Omega*. <https://doi.org/10.1021/ACSOMEGA.4C05924>
20. Castrillón, J. C. (2023). *El Impacto de la Agroindustria en el Mundo*. El Impacto de La Agroindustria En El Mundo: De La Economía a La Seguridad Alimentaria. <https://agroenlace.co/impacto-de-la-agroindustria-en-el-mundo/>
21. Cazón, P., Morales-Sanchez, E., Velazquez, G., & Vázquez, M. (2022). Measurement of the Water Vapor Permeability of Chitosan Films: A Laboratory Experiment on Food Packaging Materials. *Journal of Chemical Education*, 99(6), 2403–2408. https://doi.org/10.1021/ACS.JCHEMED.2C00449/SUPPL_FILE/ED2C00449_SI_010.DOCX
22. Cerdá, E. y K. A. (2016). *ECONOMÍA CIRCULAR, ESTRATEGIA Y COMPETITIVIDAD EMPRESARIAL ECONOMÍA CIRCULAR*. <https://www.mintur.gob.es/Publicaciones/Publicacionesperiodicas/EconomiaIndustrial/RevistaEconomiaIndustrial/401/CERD%C3%81%20y%20KHALILOVA.pdf>
23. Chandrasekar, C. M., Krishnamachari, H., Farris, S., & Romano, D. (2023). Development and characterization of starch-based bioactive thermoplastic packaging

- films derived from banana peels. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 5, 100328. <https://doi.org/10.1016/J.CARPTA.2023.100328>
24. Chaturvedi, S., Kumari, A., Bhattacharya, A., Sharma, A., Nain, L., & Khare, S. K. (2018). Banana peel waste management for single-cell oil production. *Energy, Ecology and Environment*, 3(5), 296–303. <https://doi.org/10.1007/S40974-018-0101-3/METRICS>
25. Coimbra, P., Marona, B., Henriques, M. H. F., Campos, L., Gomes, D. M. G. S., Vitorino, C., Sousa, J. J. S., Braga, M. E. M., & Gaspar, M. C. (2023). Edible films based on potato and quince peels with potential for the preservation of cured cheese. *Food Packaging and Shelf Life*, 40. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2023.101176>
26. da Silva, J., Honorato da Silva, F. L., Santos Ribeiro, J. E., Nóbrega de Melo, D. J., Santos, F. A., & Lucena de Medeiros, L. (2020). Effect of supplementation, temperature and pH on carotenoids and lipids production by *Rhodotorula mucilaginosa* on sisal bagasse hydrolyzate. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 30, 101847. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2020.101847>
27. De Herrmann, P. S. P., Pedroso Yoshida, C. M., Antunes, A. J., & Marcondes, J. A. (2004). Surface evaluation of whey protein films by atomic force microscopy and water vapour permeability analysis. *Packaging Technology and Science*, 17(5), 267–273. <https://doi.org/10.1002/PTS.662>
28. DiWu. (2016). Recycle Technology for Potato Peel Waste Processing: A Review. *Procedia Environmental Sciences*, 31, 103–107. <https://doi.org/10.1016/j.proenv.2016.02.014>
29. Donot, F., Fontana, A., Baccou, J. C., & Schorr-galindo, S. (2012). Microbial exopolysaccharides: Main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 951–962. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.08.083>
30. Du, R., Guo, W., Shen, Y., Dai, J., Zhang, H., Fu, M., & Wang, X. (2023). In situ assay of the reducing sugars in hydrophilic natural deep eutectic solvents by a modified DNS method. *Journal of Molecular Liquids*, 385, 122286. <https://doi.org/10.1016/J.MOLLIQ.2023.122286>
31. El Barnossi, A., & Housseini, A. I. (2023). Physico-chemical characterization of decomposing banana, pomegranate and mandarin peels in water and soil for a sustainable valorization. *Industrial Crops and Products*, 193, 116207. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2022.116207>

32. El Kantar, S., Boussetta, N., Rajha, H. N., Maroun, R. G., Louka, N., & Vorobiev, E. (2018). High voltage electrical discharges combined with enzymatic hydrolysis for extraction of polyphenols and fermentable sugars from orange peels. *Food Research International*, *107*, 755–762. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.01.070>
33. Enrique, J., & Zambrano, Z. (2021). *BIOMASS OF AGRICULTURAL WASTE FOR AGROINDUSTRIAL PRODUCTS OBTAINING: POTENTIALITIES AND CHALLENGES IN ECUADOR*. 120–133.
34. FAO. (2017). *Cambio climático y seguridad alimentaria y nutricional América Latina y el Caribe (orientaciones de política)*. <http://www.fao.org/3/a-i6311s.pdf>
35. FAO, FIDA, OMS, PMA, & UNICEF. (2017). *El estado de la seguridad alimentaria y la nutrición en el mundo 2017. Fomentando la resiliencia en aras de la paz y la seguridad alimentaria*. <http://www.fao.org/3/a-l7695s.pdf>
36. Fernanda Cortez-Lopes, & Ligabue-Braun, R. (2021). Agro-Industrial Residues: Eco-Friendly and Inexpensive Substrates for Microbial Pigments Production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, *5*(March). <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.589414>
37. Ferreira, A. S., Nunes, C., Castro, A., Ferreira, P., & Coimbra, M. A. (2014). Influence of grape pomace extract incorporation on chitosan films properties. *Carbohydrate Polymers*, *113*, 490–499. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2014.07.032>
38. Filip, A. V., Trefilov, A. M. I., Boroica, L., Dinca, M. C., Elisa, M., Vasiliu, I. C., Tigau, N., Brajnicov, S., Dumitru, M., Luculescu, C., (Fufa), O. G., & Sava, B. A. (2023). Graphene oxide- boro-phosphate glass nano-composite thin films synthesized by sol-gel spin coating method. *Journal of Non-Crystalline Solids*, *613*, 122372. <https://doi.org/10.1016/J.JNONCRY SOL.2023.122372>
39. Flora Beltrán-Ramírez, Domancar Orona-Tamayo, Ivette Cornejo-Corona, José Luz Nicacio González-Cervantes, J. de J. E.-C. and E. Q.-R. (2019). Agro-Industrial Waste Revalorization: The Growing Biorefinery. In A. E.-F. C. U. Abomohra (Ed.), *Biomass for Bioenergy - Recent Trends and Future Challenges* (p. 14).
40. Florida-Rofner, N., & Reategui-Diaz, F. (2019). Compost based on feathers of chickens (*gallus gallus domesticus*). *Livestock Research for Rural Development*, *31*(1), 1–10. <https://www.lrrd.org/lrrd31/1/nelin31011.html>
41. Fonseca, L. M., Henkes, A. K., Bruni, G. P., Viana, L. A. N., de Moura, C. M., Flores, W. H., & Galio, A. F. (2018). Fabrication and Characterization of Native and Oxidized Potato Starch Biodegradable Films. *Food Biophysics*, *13*(2), 163–174. <https://doi.org/10.1007/S11483-018-9522-Y/FIGURES/5>

42. Fortunatti-Montoya, M., Hegel, P. E., & Pereda, S. (2024). Density and viscosity of orange peel oil saturated with pressurized CO₂. *The Journal of Supercritical Fluids*, 214, 106373. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2024.106373>
43. Fuentes, Á., Carreño, C., & Llanos, C. (2013). Rendimiento de exopolisacáridos emulgentes producidos por bacterias halófilas nativas en tres concentraciones de melaza de *Saccharum officinarum* L. “ caña de azúcar ” Yield emulsifiers exopolysaccharides produced by native halophilic. *Scientia Agropecuaria*, 4, 111–120.
44. Gallo-Castro, F. J., Maldonado-Salinas, L. F., & Zuluaga-Huertas, J. P. (2021). Aprovechamiento de Residuos de Cáscara de Cítricos en la Concepción de Vajillas Biodegradables. *Encuentro Internacional de Educación En Ingeniería- ACOFI*, 8. <https://acofipapers.org/index.php/eiei/article/view/1713/1684>
45. Garza, M. T. G., Perez, D. B., Rodriguez, A. V., Garcia-Gutierrez, D. I., Zarate, X., Cardenas, M. E. C., Urraca-Botello, L. I., Lopez-Chuken, U. J., Trevino-Torres, A. L., De Cerino-Córdoba, F. J., Medina-Ruiz, P., Villarreal-Chiu, J. F., & Morones-Ramirez, J. R. (2016). Metal-Induced Production of a Novel Bioadsorbent Exopolysaccharide in a Native *Rhodotorula mucilaginosa* from the Mexican Northeastern Region. *PLOS ONE*, 11(2), e0148430. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0148430>
46. Garza-Cervantes, J. A. (2019). *USO DEL EXOPOLISACÁRIDO DE RHODOTORULA MUCILAGINOSA UANL-001L COMO AGENTE ESTABILIZADOR EN LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS PARA LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS HÍBRIDOS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIBIOFILM* [UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN]. <http://eprints.uanl.mx/19201/7/1080314017.pdf>
47. Garza-Cervantes, J. A., Escárcega-González, C. E., Díaz Barriga Castro, E., Mendiola-Garza, G., Marichal-Cancino, B. A., López-Vázquez, M. A., & Morones-Ramirez, J. R. (2019a). Antimicrobial and antibiofilm activity of biopolymer-Ni, Zn nanoparticle biocomposites synthesized using *R. mucilaginosa* UANL-001L exopolysaccharide as a capping agent. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 2557–2571. <https://doi.org/10.2147/IJN.S196470>
48. Garzón, J. M., Pablo Rodríguez-Miranda, J., & Org, O. (2017). *Aporte de la biorremediación para solucionar problemas de contaminación y su relación con el desarrollo sostenible Contribution of bioremediation to solve pollution problems and its relationship with sustainable development*. <https://doi.org/10.22267/rus.171902.93>

49. Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., & Oromiehie, A. (2011). Rheological and structural characterisation of film-forming solutions and biodegradable edible film made from kefiran as affected by various plasticizer types. *International Journal of Biological Macromolecules*, 49(4), 814–821. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2011.07.018>
50. Ghilardi, C., Sanmartin Negrete, P., Carelli, A. A., & Borroni, V. (2020). Evaluation of olive mill waste as substrate for carotenoid production by *Rhodotorula mucilaginosa*. *Bioresources and Bioprocessing*, 7(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S40643-020-00341-7/FIGURES/5>
51. Gniewosz, M., Synowiec, A., Kraśniewska, K., Przybył, J. L., Baczek, K., & Weglarz, Z. (2014). The antimicrobial activity of pullulan film incorporated with meadowsweet flower extracts (*Filipendulae ulmariae flos*) on postharvest quality of apples. *Food Control*, 37(1), 351–361. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2013.09.049>
52. González-sánchez, M. E., Pérez-fabiel, S., Wong-villarreal, A., & Bello-mendoza, R. (2015). *Residuos agroindustriales con potencial para la producción de metano mediante la digestión anaerobia*. 47(3). <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.05.003>
53. Goycoolea Eduardo, R. H. J. (2021). *Reporte de la USDA sobre la producción anual de cítricos de México: Naranja fresca*. INFORURAL. <https://www.inforural.com.mx/reportes-de-la-usda-sobre-la-produccion-anual-de-citricos-de-mexico-naranja-fresca/>
54. Han, L., Zhang, J., & Cao, X. (2021). Effects of orange peel powder on rheological properties of wheat dough and bread aging. *Food Science & Nutrition*, 9(2), 1061. <https://doi.org/10.1002/FSN3.2080>
55. Hussain, A., Mahmood, K., Tabasum, S., Noreen, A., Rehana, I., Muhammad, A., & Muhammad, Z. (2017). Blends and composites of exopolysaccharides; properties and applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 94, 10–27. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.09.104>
56. Jeddou, K. Ben, Chaari, F., Maktouf, S., Nouri-Ellouz, O., Helbert, C. B., & Ghorbel, R. E. (2016). Structural, functional, and antioxidant properties of water-soluble polysaccharides from potatoes peels. *Food Chemistry*, 205, 97–105. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2016.02.108>
57. Jimenez-Champi, D., Romero-Orejon, F. L., Moran-Reyes, A., Muñoz, A. M., & Ramos-Escudero, F. (2023a). Bioactive compounds in potato peels, extraction methods, and their applications in the food industry: a review. *CyTA - Journal of Food*, 21(1), 418–432. <https://doi.org/10.1080/19476337.2023.2213746>

58. Jur, D., Ribeiro, S. C., & Silva, C. C. G. (2022). Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria: From Biosynthesis to Health-Promoting Properties. *Foods*, 11(2), 23. <https://doi.org/10.3390/foods11020156>
59. Kamsonlian, S., Balomajumder, C., Suresh, S., Majumder, C. B., & Chand, S. (2011). CHARACTERIZATION OF BANANA AND ORANGE PEELS:BIOSORPTION MECHANISM CHARACTERIZATION OF BANANA AND ORANGE PEELS: BIOSORPTION MECHANISM. www.ijstm.com
60. Kanmani, P., & Rhim, J. W. (2014a). Antimicrobial and physical-mechanical properties of agar-based films incorporated with grapefruit seed extract. *Carbohydrate Polymers*, 102(1), 708–716. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2013.10.099>
61. Kanmani, P., & Rhim, J. W. (2014b). Development and characterization of carrageenan/grapefruit seed extract composite films for active packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, 68, 258–266. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2014.05.011>
62. Kanzy, H. M., Nasr, N. F., El-Shazly, H. A. M., & Barakat, O. S. (2015). Optimization of Carotenoids production by yeast strains of *Rhodotorula* using salted cheese whey. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 4(1), 456–469. <http://www.ijcmas.com>
63. Karakuş, E., Ayhan, Z., & Haskaraca, G. (2023). Development and characterization of sustainable-active-edible-bio based films from orange and pomegranate peel waste for food packaging: Effects of particle size and acid/plasticizer concentrations. *Food Packaging and Shelf Life*, 37, 101092. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2023.101092>
64. Khan, U. M., Sameen, A., Aadil, R. M., Shahid, M., Sezen, S., Zarrabi, A., Ozdemir, B., Sevindik, M., Kaplan, D. N., Selamoglu, Z., Ydyrys, A., Anitha, T., Kumar, M., Sharifi-Rad, J., & Butnariu, M. (2021). Citrus genus and its waste utilization: A review on health-promoting activities and industrial application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021(special issue). <https://doi.org/10.1155/2021/2488804>
65. Kieliszek, M., Kot, A. M., & Kolotylo, V. (2023). Bioaccumulation of selenium and production of carotenoids by the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 53, 102903. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2023.102903>

66. Koochi, Z. H., Jahromi, K. G., Kavoosi, G., & Ramezani, A. (2023). Fortification of *Chlorella vulgaris* with citrus peel amino acid for improvement biomass and protein quality. *Biotechnology Reports*, 39, e00806. <https://doi.org/10.1016/J.BTRE.2023.E00806>
67. Kumar, V. B., Pulidindi, I. N., & Gedanken, A. (2016). Glucose production from potato peel waste under microwave irradiation. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 417, 163–167. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCATA.2016.03.025>
68. Kumar, V., Chakraborty, P., Janghu, P., Umesh, M., Sarojini, S., Pasrija, R., Kaur, K., Lakkaboyana, S. K., Sugumar, V., Nandhagopal, M., & Sivalingam, A. M. (2023). Potential of banana based cellulose materials for advanced applications: A review on properties and technical challenges. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 6, 100366. <https://doi.org/10.1016/J.CARPTA.2023.100366>
69. Lavanya, K. M., Florence, J. A. K., Vivekanandan, B., & Lakshmi pathy, R. (2022). Comparative investigations of raw and alkali metal free banana peel as adsorbent for the removal of Hg²⁺ ions. *Materials Today: Proceedings*, 55, 321–326. <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2021.07.410>
70. LEY GENERAL PARA LA PREVENCIÓN Y GESTIÓN INTEGRAL DE LOS RESIDUOS (2015). <https://www.gob.mx/profepa/documentos/ley-general-para-la-prevencion-y-gestion-integral-de-los-residuos-62914>
71. Li, P. jun, Xia, J. lan, Shan, Y., Nie, Z. yuan, & Wang, F. ran. (2015). Effects of Surfactants and Microwave-assisted Pretreatment of Orange Peel on Extracellular Enzymes Production by *Aspergillus japonicus* PJ01. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 176(3), 758–771. <https://doi.org/10.1007/s12010-015-1609-z>
72. Li, W., Ji, J., Rui, X., Yu, J., Tang, W., Chen, X., & Jiang, M. (2014). LWT - Food Science and Technology Production of exopolysaccharides by *Lactobacillus helveticus* MB2-1 and its functional characteristics in vitro. *LWT - Food Science and Technology*, 59(2), 732–739. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.063>
73. Li, Z., Li, C., Cheng, P., & Yu, G. (2022). *Rhodotorula mucilaginosa*—alternative sources of natural carotenoids, lipids, and enzymes for industrial use. *Heliyon*, 8(11), e11505. <https://doi.org/10.1016/J.HELİYON.2022.E11505/ASSET/5A24DDBB-71BE-4015-9EEC-C7E9BA4B7321/MAIN.ASSETS/GR2.JPG>
74. Liu, Y., Gu, Q., Ofosu, F. K., & Yu, X. (2016). Production, structural characterization and gel forming property of a new exopolysaccharide produced by *Agrobacterium*

- HX1126 using glycerol or d-mannitol as substrate. *Carbohydrate Polymers*, 136, 917–922. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2015.09.107>
75. Lopes, J., Gonçalves, I., Nunes, C., Teixeira, B., Mendes, R., Ferreira, P., & Coimbra, M. A. (2021). Potato peel phenolics as additives for developing active starch-based films with potential to pack smoked fish fillets. *Food Packaging and Shelf Life*, 28, 100644. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2021.100644>
76. López-Silva, C.B., Rodríguez-Jiménez, J. y Amaya-Guerra, C. A. (2019). Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos Aprovechamiento de cáscara de papa generada en la cafetería de Ciencias Biológicas de la UANL para la elaboración de harina rica en antioxidantes . RESUMEN : ABSTRACT : Palabras clave : Área. *Investigación y Desarrollo En Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4, 887–890.
77. Lynch, K., Coffey, A., & Arendt, E. (2018). Exopolysaccharide producing lactic acid bacteria: Their techno-functional role and potential application in gluten-free bread products. *Food Res Int*, 1, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.012>
78. Ma, Y., Zhao, H., Ma, Q., Cheng, D., Zhang, Y., Wang, W., Wang, J., & Sun, J. (2022). Development of chitosan/potato peel polyphenols nanoparticles driven extended-release antioxidant films based on potato starch. *Food Packaging and Shelf Life*, 31, 100793. <https://doi.org/10.1016/J.FPSL.2021.100793>
79. Machado, W. R. C., Murari, C. S., Duarte, A. L. F., & Del Bianchi, V. L. (2022). Optimization of agro-industrial coproducts (molasses and cassava wastewater) for the simultaneous production of lipids and carotenoids by *Rhodotorula mucilaginosa*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 42, 102342. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2022.102342>
80. Mada, T., Duraisamy, R., & Guesh, F. (2022). Optimization and characterization of pectin extracted from banana and papaya mixed peels using response surface methodology. *Food Science & Nutrition*, January, 1–17. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2754>
81. Mahwish, Z, Muhammad, N, Muhammad, S. (2020). Banana Peels: A Promising Substrate for the Coproduction of Pectinase and Xylanase from *Aspergillus fumigatus* MS16. *Polish Journal of Microbiology*, 69(1), 19–26. <https://doi.org/10.33073/pjm-2020-002>
82. Maqbool, Z., Khalid, W., Atiq, H. T., Koraqi, H., Javaid, Z., Alhag, S. K., Al-Shuraym, L. A., Bader, D. M. D., Almarzuq, M., Afifi, M., & AL-Farga, A. (2023). Citrus Waste

- as Source of Bioactive Compounds: Extraction and Utilization in Health and Food Industry. *Molecules*, 28(4). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES28041636>
83. Mariano Magaña Lemus, M. Á. V. M. (2020). *El cultivo de papa, una red con valor en Nuevo León*. EL ECONOMISTA. <https://www.economista.com.mx/opinion/El-cultivo-de-papa-una-red-con-valor-en-Nuevo-Leon-20200818-0143.html>
84. Martínez-Trujillo, M. A., Bautista-Rangel, K., García-Rivero, M., Martínez-Estrada, A., & Cruz-Díaz, M. R. (2020). Enzymatic saccharification of banana peel and sequential fermentation of the reducing sugars to produce lactic acid. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 43(3), 413–427. <https://doi.org/10.1007/S00449-019-02237-Z/FIGURES/5>
85. Martins, L. C., Palma, M., Angelov, A., Nevoigt, E., Liebl, W., & Sá-Correia, I. (2021). Complete Utilization of the Major Carbon Sources Present in Sugar Beet Pulp Hydrolysates by the Oleaginous Red Yeasts *Rhodotorula toruloides* and *R. mucilaginosa*. *Journal of Fungi* 2021, Vol. 7, Page 215, 7(3), 215. <https://doi.org/10.3390/JOF7030215>
86. Mattos, M. V. C. da V. de, Michelon, M., & Burkert, J. F. de M. (2022). Production and stability of food-grade liposomes containing microbial carotenoids from *Rhodotorula mucilaginosa*. *Food Structure*, 33, 100282. <https://doi.org/10.1016/J.FOOSTR.2022.100282>
87. Mejías, N., Orozco, E., & Galáan, H. (2016). Aprovechamiento de los residuos agroindustriales y su contribución al desarrollo sostenible de México Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales. *Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales*, 2(6), 27–41.
88. Meléndez-Martínez, A. J., Stinco, C. M., & Mapelli-Brahm, P. (2019). Skin Carotenoids in Public Health and Nutricosmetics: The Emerging Roles and Applications of the UV Radiation-Absorbing Colourless Carotenoids Phytoene and Phytofluene. *Nutrients* 2019, Vol. 11, Page 1093, 11(5), 1093. <https://doi.org/10.3390/NU11051093>
89. Melo Sabogal, Diana Victoria. Torres Grisales, Y., Serna jiménez, J. A., & Torres Valenzuela, L. S. (2015). APROVECHAMIENTO DE PULPA Y CÁSCARA DE PLÁTANO(*Musa paradisiaca* spp) PARA LA OBTENCIÓN DE MALTODEXTRINA. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 13(2), 76. [https://doi.org/10.18684/bsaa\(13\)76-85](https://doi.org/10.18684/bsaa(13)76-85)

90. Mohamed, H., Shah, A. M., & Song, Y. (2021). Conversion of Agro - industrial Wastes into Value - Added Products [Chapter]. *Conversion of Renewable Biomass into Bioproducts, Part 10 - Conversion of Agro-Industrial Wastes into Value-Added Products, October*. <https://doi.org/10.1021/bk-2021-1392.ch010>
91. Mohd Zaini, H., Roslan, J., Saallah, S., Munsu, E., Sulaiman, N. S., & Pindi, W. (2022a). Banana peels as a bioactive ingredient and its potential application in the food industry. In *Journal of Functional Foods* (Vol. 92). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105054>
92. Mohd Zaini, H., Roslan, J., Saallah, S., Munsu, E., Sulaiman, N. S., & Pindi, W. (2022b). Banana peels as a bioactive ingredient and its potential application in the food industry. *Journal of Functional Foods*, 92, 105054. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2022.105054>
93. Moiedi Sunira, P., & Sumathy, V. J. H. (2018). Production of -amylase from banana peels with *Bacillus subtilis* using solid state fermentation Original Research Article Production of -amylase from banana peels with *Bacillus subtilis* using solid state fermentation Introduction Worldwide , there is no sha. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences (IJCMAS)*, 2(10), 195–206.
94. Molina, D. C., Bogao, G., Tubio, G., & Corbino, G. (2023). *Utilization of sweet potato root residues for the production of bacterial xylanases: a sustainable approach*.
95. Moncayo Luján, M. del R., Reyes Munguía, A., & Carrillo Inungaray, M. L. (2018). Aprovechamiento De Subproductos Agronómicos. *Revista Académica de Investigación TLATEMOANI*, 29, 115–127. <http://www.eumed.net/rev/tlatemoani/index.html>
96. Montañez, L. J. B. (2020). Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico. *Revista de Investigación*, 13(1), 57–66. <https://doi.org/10.29097/23461098.308>
97. Moradi, M., Guimaraes, J., & Sahin, S. (2021). Current applications of exopolysaccharides from lactic acid bacteria in the development of food active edible packaging. *Current Opinion in Food Science*, 40, 33–39. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.06.001>
98. Mpofo, N. S., Mwasiagi, J. I., Mecha, C. A., & Nganyi, E. O. (2023). Evaluation of solanum tuberosum potato peel waste for use as an eco-friendly antibacterial finish for cotton fabrics. *Research Journal of Textile and Apparel, ahead-of-print(ahead-of-print)*. <https://doi.org/10.1108/RJTA-05-2023-0052/FULL/XML>

99. Mwema, F. M., Akinlabi, E. T., & Oladijo, O. P. (2020). Dependence of fractal characteristics on the scan size of atomic force microscopy (AFM) phase imaging of aluminum thin films. *Materials Today: Proceedings*, 26, 1540–1545. <https://doi.org/10.1016/J.MATPR.2020.02.316>
100. Narváez, M. (2018). *Aprovechamiento de residuos agroindustriales cítricos*. CienciaMX. <http://www.cienciamx.com/index.php/ciencia/quimica/23762aprovechamiento-residuos-agroindustriales-citricos>
101. Nazren, Z., Sirajudin, M., Uddin Ahmed, Q., Jalal, A., Chowdhury, K., Kamarudin, E. Z., Khan, A. V., Uddin, A. H., & Musa, N. (2014). Antimicrobial Activity of Banana (*Musa paradisiaca* L.) Peels against Food Borne Pathogenic Microbes. *JOURNAL OF PURE AND APPLIED MICROBIOLOGY*, 8(5), 3627–3639.
102. Noemi, H., Chambi, M., Raimundo, C., & Grosso, F. (n.d.). *Mechanical and water vapor permeability properties of biodegradable films based on methylcellulose, glucomannan, pectin and gelatin* *Propriedades mecânicas e de permeabilidade ao vapor de água de filmes biodegradáveis à base de metilcelulose, glucomanana, pectina e gelatina*.
103. Norma Mexicana, & NMX-AA-034-SCFI-2015. (2015). *SECRETARÍA DE ECONOMÍA WATER ANALYSIS-MEASUREMENT OF SALTS AND SOLIDS DISSOLVED IN NATURAL WATER, WASTEWATERS AND TREATED WASTEWATERS-TEST METHOD*.
104. Nouri, L., & Mohammadi Nafchi, A. (2014). Antibacterial, mechanical, and barrier properties of sago starch film incorporated with betel leaves extract. *International Journal of Biological Macromolecules*, 66, 254–259. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2014.02.044>
105. Nunes, J. M., Bizerra, F. C., Carmona E Ferreira, R., & Colombo, A. L. (2013). Molecular identification, antifungal susceptibility profile, and biofilm formation of clinical and environmental *Rhodotorula* species isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(1), 382–389. <https://doi.org/10.1128/AAC.01647-12/ASSET/6966A8A5-5CF2-4015-B18E-FC4A2B4EFD74/ASSETS/GRAPHIC/ZAC9991015050003.JPEG>
106. Oliveira, T. Í. S., Rosa, M. F., Ridout, M. J., Cross, K., Brito, E. S., Silva, L. M. A., Mazzetto, S. E., Waldron, K. W., & Azeredo, H. M. C. (2017). Bionanocomposite films

- based on polysaccharides from banana peels. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 1–8. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2017.03.068>
107. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura-FAO. (2022). *México en una mirada: Producción agroalimentaria*. FAO En México. <https://www.fao.org/mexico/fao-en-mexico/mexico-en-una-mirada/es/>
108. Organización de las Naciones Unidas-ONU. (2021, March 2). *La economía circular: un modelo económico que lleva al crecimiento y al empleo sin comprometer el medio ambiente | Noticias ONU*. <https://news.un.org/es/story/2021/03/1490082>
109. Ospina, R. P. (2012). Alternativa de aprovechamiento eficiente de residuos biodegradables: el caso del almidón residual derivado de la industrialización de la papa Bogotá, 180-192. *Revista EAN*, 72, 182–192.
110. Palacios, S., Ruiz, H. A., Ramos-Gonzalez, R., Martínez, J., Segura, E., Aguilar, M., Aguilera, A., Michelena, G., Aguilar, C., & Ilyina, A. (2017). Comparison of physicochemical pretreatments of banana peels for bioethanol production. *Food Science and Biotechnology*, 26(4), 993–1001. <https://doi.org/10.1007/S10068-017-0128-9/FIGURES/5>
111. Pełksa, A., Miedzianka, J., Nemś, A., & Rytel, E. (2021). The Free-Amino-Acid Content in Six Potatoes Cultivars through Storage. *Molecules*, 26(5). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26051322>
112. Pereira, G. A., Arruda, H. S., Molina, G., & Pastore, G. M. (2018). Extraction optimization and profile analysis of oligosaccharides in banana pulp and peel. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), e13408. <https://doi.org/10.1111/JFPP.13408>
113. Pham, P. L., Dupont, I., Roy, D., Lapointe, G., & Cerning, J. (2000). Production of exopolysaccharide by *Lactobacillus rhamnosus* R and analysis of its enzymatic degradation during prolonged fermentation. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6), 2302–2310. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.6.2302-2310.2000>
114. Pharma, D., Sangeetha, M., Madhan, D., & Rajendran, S. (2021). ISSN 0975-413X CODEN (USA): PCHHAX Corrosion Inhibition of Hydrophobic Nano Film of Eco Friendly Banana peel Extract on Mild Steel in Seawater. 13(11), 63–70. www.derpharmachemica.com
115. Por, E., Da Silva, C. A., Baker, D., Shepherd, A. W., Jenane, C., & Miranda Da Cruz, S. (2013). *Agroindustrias para el desarrollo*. www.fao.org/ag/ags

116. Prabhu, A. A., Gadela, R., Bharali, B., Deshavath, N. N., & Dasu, V. V. (2019). Development of high biomass and lipid yielding medium for newly isolated *Rhodotorula mucilaginosa*. *Fuel*, 239, 874–885. <https://doi.org/10.1016/J.FUEL.2018.11.088>
117. Prete, R., Alam, M. K., Perpetuini, G., Perla, C., Pittia, P., & Corsetti, A. (2021). Lactic Acid Bacteria Exopolysaccharides Producers: A Sustainable Tool for Functional Foods. *Foods*, 10(7), 1–26. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/foods10071653>
118. Quilez-Molina, A. I., Oliveira-Salmazo, L., Amezúa-Arranz, C., López-Gil, A., & Rodríguez-Pérez, M. Á. (2023). Evaluation of the acid hydrolysis as pre-treatment to enhance the integration and functionality of starch composites filled with rich-in-pectin agri-food waste orange peel. *Industrial Crops and Products*, 205, 117407. <https://doi.org/10.1016/J.INDCROP.2023.117407>
119. Quintero-Curvelo, G. A., Huertas-Díaz, W. A., & Ortega-David, E. (2017). *Artículo de investigación Procesamiento de plumas de pollo para la obtención de queratina Processing of chicken feathers to obtain keratin*. <https://doi.org/10.18634/ugcj.23v.0i.767>
120. Radha, D., Lal, J. S., & Devaky, K. S. (2023). Release studies of the anticancer drug 5-fluorouracil from chitosan-banana peel extract films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 128460. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.128460>
121. Ramos, A., Cabero, M., Orden, B., Ángel-moreno, A., & Forés, R. (2012). Fungemia por *Rhodotorula mucilaginosa*. Presentación de dos casos. *Rev Esp Quimioter*, 25(1), 76–78.
122. Ramos, R., Rodríguez Negrín, Z., Huici, A., Miranda, L., Díaz, M. I., Pichardo, T., Rodríguez, E., & Alvarado-Capó, Y. (2021). Escalado de la producción de bioproducto de origen microbiano obtenido por fermentación estática. *Biotecnología Vegetal*, 21(1), 25–34. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2074-86472021000100025&lng=es&nrm=iso&tlng=es
123. Rasidek, N. A. M., Nordin, M. F. M., Iwamoto, K., Rahman, N. A., Nagatsu, Y., & Tokuyama, H. (2018). Rheological flow models of banana peel pectin jellies as affected by sugar concentration. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 2087–2099. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1514505>

124. Rehman, R., Mahmud, T., & Irum, M. (2015). Comparative sorption studies for Amaranth dye removal from water in cost-effective way using Guava leaves and potato peels. *Asian Journal of Chemistry*, 27(6), 2008–2014. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2015.17656>
125. Rodrigues, T. V. D., Amore, T. D., Teixeira, E. C., & Burkert, J. F. de M. (2019). Carotenoid Production by *Rhodotorula mucilaginosa* in Batch and Fed-Batch Fermentation Using Agroindustrial Byproducts. *Food Technology and Biotechnology*, 57(3), 388. <https://doi.org/10.17113/FTB.57.03.19.6068>
126. Rodríguez Salas, O. L. (2008). *PRODUCCIÓN DE BIOETANOL A PARTIR DE BIOMASA LIGNOCELULÓSICA EN MÉXICO*.
127. Rodríguez-Gonzales, A., Zárate-Villarroe, S. G., Bastida-Codina, A., Rodríguez-Gonzales, A., Zárate-Villarroe, S. G., & Bastida-Codina, A. (2022). Biodiversidad bacteriana presente en suelos contaminados con hidrocarburos para realizar biorremediación. *Revista de Ciencias Ambientales*, 56(1), 178–208. <https://doi.org/10.15359/RCA.56/1.9>
128. Rojas-gonzález, C. A. F., Flores-Montes, C., & López-Rodríguez, D. (2019). Use prospects of some agroindustrial waste Introducción. *Revista Cubana de Química*, 31(1), 21.
129. Romero-Bonilla, H; Macías-Balón, C ; Palacios Moreno, A; Redrovan Pesantez, F. (2019). Estudio cinético de la producción de bioetanol a partir de residuos agroindustriales de la cáscara de banano maduro. *Industrial Data*, 22(1), 6. <https://www.redalyc.org/journal/816/81661270012/html/>
130. Rosas-Mejía, H. G., León-Buitimea, A., Castillo-Patiño, D. L., Rivas-García, P., Fernandez Delgado, S. S., Salinas-Salazar, C., & Morones-Ramírez, J. R. (2024). Transforming CO₂ into Nutrients: Sustainable Production of Carotenoids Using *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L Cultivated on *Synechocystis* sp. PCC 6803 Biomass. *Industrial and Engineering Chemistry Research*. <https://doi.org/10.1021/ACS.IECR.4C01217>
131. SADER. (2021). *Aumentó 2.9 por ciento producción de plátano mexicano en 2020*. Comunicado. <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/aumento-2-9-por-ciento-produccion-de-platano-mexicano-en-2020#:~:text=La producción de plátano en,dos millones 469 mil toneladas.&text=Tiene una participación en la,frutos de 10.1 por ciento>.

132. SADER & SAIP. (2024). *Microsoft Word - Balanza Comercial Agropecuaria y Agroindustrial* agosto 2024. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/937720/Balanza_Comercial_Agropecuaria_y_Agroindustrial_Junio_2024.pdf
133. Sadh, P. K., Duhan, S., & Duhan, J. S. (2018). Agro-industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. *Bioresources and Bioprocessing*, 5(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/s40643-017-0187-z>
134. SAGARPA. (2016). *agrícola nacional CÍTRICOS Y TORONJA Mexicanos*.
135. Salazar, D., Arancibia, M., Casado, S., Viteri, A., López-Caballero, M. E., & Montero, M. P. (2021). Green Banana (*Musa acuminata* AAA) Wastes to Develop an Edible Film for Food Applications. *Polymers 2021*, Vol. 13, Page 3183, 13(18), 3183. <https://doi.org/10.3390/POLYM13183183>
136. Sanchez-Silva, J. M., González-Estrada, R. R., Blancas-Benitez, F. J., & Fonseca-Cantabrana, Á. (2020). Utilización de subproductos agroindustriales para la bioadsorción de metales pesados. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 23, 1–18. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.261>
137. Santos, C. M., Dweck, J., Viotto, R. S., Rosa, A. H., & de Morais, L. C. (2015). Application of orange peel waste in the production of solid biofuels and biosorbents. *Bioresource Technology*, 196, 469–479. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2015.07.114>
138. Sardari, R. R. R., Kulcinskaja, E., Ron, E. Y. C., Björnsdóttir, S., Fri, Ó. H., & Nordberg, E. (2017). Evaluation of the production of exopolysaccharides by two strains of the thermophilic bacterium *Rhodothermus marinus*. *Carbohydrate Polymers*, 156, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.08.062>
139. Saval Susana. (2012). Aprovechamiento de residuos agroindustriales: pasado, presente y futuro. *Bio-Tecnología*, 16(2), 14–16.
140. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural-SADER. (2020). *Plátano: la fruta tropical más cultivada en México*. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/hoy-dia-del-platano>
141. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales-SEMARNAT. (2019). *Visión Nacional hacia una Gestión Sustentable: Cero Residuos*.
142. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales-SEMARNAT. (2023, May 21). *Trabaja Semarnat en Estrategia Nacional de Economía Circular | Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales | Gobierno | gob.mx*.

<https://www.gob.mx/semarnat/prensa/trabaja-semarnat-en-estrategia-nacional-de-economia-circular>

143. SEMARNAT. (2020). *Diagnóstico Básico para la Gestión Integral de los Residuos*.
144. Sengupta, A., & Sarkar, A. (2022). Synthesis and characterization of nanoparticles from neem leaves and banana peels: a green prospect for dye degradation in wastewater. *Ecotoxicology*, 31(4), 537–548. <https://doi.org/10.1007/S10646-021-02414-5>
145. Silva-Weiss, A., Bifani, V., Ihl, M., Sobral, P. J. A., & Gómez-Guillén, M. C. (2014). Polyphenol-rich extract from murta leaves on rheological properties of film-forming solutions based on different hydrocolloid blends. *Journal of Food Engineering*, 140, 28–38. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2014.04.010>
146. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera- SIAP & Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural- SADER. (2023). *Balanza Comercial Agroalimentaria de México* (Vol. 7). www.gob.mx/siap
147. Sucheta, Rai, S. K., Chaturvedi, K., & Yadav, S. K. (2019). Evaluation of structural integrity and functionality of commercial pectin based edible films incorporated with corn flour, beetroot, orange peel, muesli and rice flour. *Food Hydrocolloids*, 91, 127–135. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2019.01.022>
148. Swati, T., Digambar, K., Palanisamy-Bruntha, D., & Prathap Kumar-Halady, S. (2021). Bacterial exopolysaccharides for improvement of technological, functional and rheological properties of yoghurt. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 1585–1595. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.140>
149. Tarazona, A. (2021). *LA IMPORTANCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN LA AGRICULTURA*. TARAZONA. <https://www.antoniotarazona.com/importancia-microorganismos-agricultura/>
150. Tibolla, Heloisa. Pelissari, F. Rodrigues, M.I. Menegalia, F. (2017). Cellulose nanofibers produced from banana peel by enzymatic treatment: Study of process conditions. *Industrial Crops and Products*, 95, 664–674. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.11.035>
151. Toprakçı, İ., Balci-Torun, F., Deniz, N. G., Ortoboy, S., Torun, M., & Şahin, S. (2023). Recovery of citrus volatile substances from orange juice waste: Characterization with GC-MS, FTIR, ¹H- and ¹³C-NMR spectroscopies.

152. Torino MI, Font de Valdez G, M. F. (2015). Biopolymers from lactic acid bacteria. Novel applications in foods and beverages. *Front Microbiol*, 6(834). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00834>. PMID: 26441845
153. Torres-Alvarez, D., León-Buitimea, A., Albalade-Ramírez, A., Rivas-García, P., Hernández-Núñez, E., & Morones-Ramírez, J. R. (2022a). Conversion of banana peel into diverse valuable metabolites using an autochthonous *Rhodotorula mucilaginosa* strain. *Microbial Cell Factories*, 21(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/S12934-022-01834-0/TABLES/5>
154. Unión Europea- EU. (2023, May 24). *Economía circular: definición, importancia y beneficios* | Temas | Parlamento Europeo. <https://www.europarl.europa.eu/topics/es/article/20151201STO05603/economia-circular-definicion-importancia-y-beneficios>
155. Vargas Corredor, Y. A., & y Pérez Pérez, L. I. (2018). Aprovechamiento de residuos agroindustriales en el mejoramiento de la calidad del ambiente. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, V(1), 59–72. <https://doi.org/10.18359/rfcb.3108>
156. Vázquez Rodríguez, A., Vasto Anzaldo, X., Barboza Pérez, D., Vázquez Garza, E., Chapoy Villanueva, H., Gerardo, G. R., Garza-Cervantes, J., Gómez-Lugo, J., Gómez-Loredo, A., Garza González, M., Zárate, X., & Morones-Ramírez, J. R. (2019). Antimicrobial and antibiofilm activity of biopolymer-Ni, Zn nanoparticle biocomposites synthesized using *R. mucilaginosa* UANL-001L exopolysaccharide as a capping agent. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 2557–2571.
157. Vázquez Rodríguez, J. A. (2016). *Síntesis y análisis de las propiedades antimicrobianas y antibiopelícula de materiales biopolímero-plata*.
158. Vazquez-Rodriguez, A., Vasto-Anzaldo, X. G., Barboza Perez, D., Vázquez-Garza, E., Chapoy-Villanueva, H., García-Rivas, G., Garza-Cervantes, J. A., Gómez-Lugo, J. J., Gomez-Loredo, A. E., Garza Gonzalez, M. T., Zarate, X., & Morones-Ramirez, J. R. (2018). Microbial Competition of *Rhodotorula mucilaginosa* UANL-001L and *E. coli* increase biosynthesis of Non-Toxic Exopolysaccharide with Applications as a Wide-Spectrum Antimicrobial. *Scientific Reports 2018 8:1*, 8(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17908-8>
159. Vazquez-Rodriguez, A., Vasto-Anzaldo, X. G., Leon-Buitimea, A., Zarate, X., & Morones-Ramirez, J. R. (2020). Antibacterial and Antibiofilm Activity of

- Biosynthesized Silver Nanoparticles Coated with Exopolysaccharides Obtained from *Rhodotorula mucilaginosa*. *IEEE Transactions on Nanobioscience*, 19(3), 498–503.
<https://doi.org/10.1109/TNB.2020.2985101>
160. Wang, Y., Zhang, R., Ahmed, S., Qin, W., & Liu, Y. (2019). Preparation and Characterization of Corn Starch Bio-Active Edible Packaging Films Based on Zein Incorporated with Orange-Peel Oil. *Antioxidants 2019*, Vol. 8, Page 391, 8(9), 391.
<https://doi.org/10.3390/ANTIOX8090391>
161. Witczak, T., Witczak, M., Stępień, A., Bednarz, A., & Grzesik, M. (2017). State diagrams of candied orange peel obtained using different hypertonic solutions. *Journal of Food Engineering*, 212, 234–241.
<https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2017.06.007>
162. Yaradoddi, J. S., Banapurmath, N. R., Ganachari, S. V., Soudagar, M. E. M., Sajjan, A. M., Kamat, S., Mujtaba, M. A., Shettar, A. S., Anqi, A. E., Safaei, M. R., Elfakhany, A., Siddiqui, M. I. H., & Ali, M. A. (2022). Bio-based material from fruit waste of orange peel for industrial applications. *Journal of Materials Research and Technology*, 17, 3186–3197. <https://doi.org/10.1016/J.JMRT.2021.09.016>
163. Zhang, W., Li, X., & Jiang, W. (2020). Development of antioxidant chitosan film with banana peels extract and its application as coating in maintaining the storage quality of apple. *International Journal of Biological Macromolecules*, 154, 1205–1214.
<https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2019.10.275>

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

MSc. Diana Lucinda Castillo Patiño

Candidata para el grado de

Doctor en Ciencias con orientación en **Microbiología Aplicada**

Tesis: Producción de exopolisacáridos microbianos de interés industrial para la valorización de la cáscara de plátano y sus combinaciones con diferentes residuos orgánicos.

Edad: 34 años.

Campo de estudio: Transformación de residuos orgánico en biopolímeros.

Biografía:

Datos personales: De nacionalidad ecuatoriana, nacida en el cantón Chunchi, provincia de Chimborazo, Ecuador, el 08 de abril de 1990, hija de Rosa Ana Castillo Patiño.

Educación: Egresada de la Escuela Agrícola Panamericana “Zamorano”, Ing. En Agroindustria Alimentaria, en el 2014, y Máster en Tecnología de los Alimentos, de la Università degli studi di Parma y la UBA, en el 2020.