

# PRODUCCIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE CELULOSA BACTERIANA A PARTIR DE JUGO DE RAQUIS DE BANANO (*MUSA SPP.*) PRETRATADO CON OZONO MEDIANTE DISEÑO BOX-BEHNKEN

ANDRES JOEL ZEAS SESME\*

<https://orcid.org/0009-0002-0540-3434>

Facultad de Posgrado, Universidad Estatal de Milagro, Ecuador

THAILY JAZMIN MARTÍNEZ CASTILLO

<https://orcid.org/0000-0002-7027-6163>

Facultad de Posgrado, Universidad Estatal de Milagro, Ecuador

MANUEL ALEJANDRO FIALLOS CÁRDENAS

<https://orcid.org/0000-0003-3711-2041>

Facultad de Salud y Servicios Sociales, Universidad Estatal de Milagro, Ecuador

Recibido: 13 de marzo del 2026 / Aceptado: 28 de abril del 2026

Publicado: 15 de junio del 2026

doi: <https://doi.org/10.26439/ing.ind2026.n50.8611>

**RESUMEN.** La valorización del raquis de banano (RB) constituye una estrategia clave en la bioeconomía circular de regiones tropicales. Este estudio evaluó la producción de celulosa bacteriana (CB) por *Komagataeibacter hansenii* ATCC 23769 utilizando jugo de raquis de banano (JRB) pretratado con ozono ( $600 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1}$ ). Mediante un diseño Box-Behnken, se identificaron la fracción volumétrica de JRB (25-75 % v/v) y el tiempo de fermentación (7-21 días) como factores críticos del rendimiento, mientras que el tiempo de ozonización (10-30 min) mostró un efecto limitado. Bajo condiciones óptimas (75 % v/v de JRB, 21 días de fermentación), se alcanzó un rendimiento máximo de  $6,00 \pm 0,56 \text{ g L}^{-1}$ , con un modelo de superficie de respuesta de  $R^2 = 0,7894$ . El escalamiento a un biorreactor estático de

---

Este estudio no fue financiado por ninguna entidad.

\* Autor corresponsal.

Correos electrónicos en orden de aparición: [azeass@unemi.edu.ec](mailto:azeass@unemi.edu.ec); [Tmartinez@unemi.edu.ec](mailto:Tmartinez@unemi.edu.ec); [manuel.fiallos@ikiam.edu.ec](mailto:manuel.fiallos@ikiam.edu.ec)

Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0).

20 L confirmó la robustez del sistema, manteniendo  $\sim 6 \text{ g L}^{-1}$ . La caracterización mediante FTIR-ATR, XRD y TGA confirmó la presencia de celulosa tipo I de alta pureza estructural. Estos resultados posicionan al JRB pretratado con ozono como un sustrato sostenible para producir CB, lo que contribuye a la valorización de residuos agroindustriales.

PALABRAS CLAVE: celulosa bacteriana / raquis de banano / ozono / optimización / superficie de respuesta / escalamiento

## PRODUCTION AND OPTIMISATION OF BACTERIAL CELLULOSE FROM BANANA (MUSA SPP.) BANANA RACHIS JUICE PRE-TREATED WITH OZONE USING A BOX-BEHNKEN DESIGN

ABSTRACT. The valorisation of banana rachis (BR) is a key strategy within the circular bioeconomy of tropical regions. This study evaluated the production of bacterial cellulose (BC) by *Komagataeibacter hansenii* ATCC 23769 using banana rachis juice (BRJ) pretreated with ozone ( $600 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1}$ ). Through a Box-Behnken design, the BRJ volume fraction (25-75 % v/v) and fermentation time (7-21 days) were identified as the critical factors affecting yield, whilst ozonation time (10-30 min) exhibited a limited effect. Under optimal conditions (75 % v/v BRJ, 21 days of fermentation), a maximum yield of  $6,00 \pm 0,56 \text{ g L}^{-1}$  was achieved, with a response surface model exhibiting  $R^2 = 0,7894$ . Scale-up to a 20 L static bioreactor confirmed the robustness of the system, maintaining approximately  $6 \text{ g L}^{-1}$ . Characterisation via FTIR-ATR, XRD, and TGA confirmed type I cellulose of high structural purity. These findings position ozone-pretreated BRJ as a sustainable substrate for BC production, thereby contributing to the valorisation of agro-industrial waste.

KEYWORDS: bacterial cellulose / banana rachis / ozone / optimization / response surface / scale-up

## INTRODUCCIÓN

La agroindustria del banano (*Musa spp.*) constituye un pilar económico y social en regiones tropicales y subtropicales, especialmente en América Latina y el Caribe, donde sostiene millones de empleos rurales y representa una de las principales exportaciones agrícolas (Zou & Fan, 2022). En Ecuador, principal exportador mundial, el cultivo de banano contribuye aproximadamente con el 2 % del producto interno bruto (PIB) nacional y cerca del 35 % del PIB agrícola (Martínez-Solórzano & Rey-Brina, 2021). No obstante, la intensificación productiva ha generado externalidades ambientales significativas, incluyendo degradación del suelo, contaminación de cuerpos hídricos por agroquímicos y emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), tales como CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> y N<sub>2</sub>O (Abdoussalami et al., 2023).

Dentro de los desechos generados por la actividad bananera, el raquis de banano (RB) destaca como el componente lignocelulósico central encargado del soporte de los frutos durante su crecimiento. A nivel regional, este subproducto constituye aproximadamente una quinta parte de la biomasa total del vegetal, alcanzando volúmenes que sobrepasan los 1,6 millones de toneladas por año en el territorio latinoamericano (Zaini et al., 2023). El manejo inadecuado de este residuo bajo condiciones anaerobias propicia la emisión de metano, lo cual incrementa el impacto ambiental y la huella de carbono de la industria (Alzate Acevedo et al., 2021). Por consiguiente, integrar la valorización del RB en modelos de bioeconomía circular representa una oportunidad estratégica para transformar este residuo en bioproductos con alto valor comercial.

En términos de su constitución química, el RB se clasifica como una biomasa lignocelulósica integrada por celulosa (31-37 %), hemicelulosa (8-12 %) y lignina de tipo HGS (hidroxifenil-guayacil-siringil) (Deumaga et al., 2015; Tippmann et al., 2017). Esta matriz estructural se complementa con una presencia notable de fitoquímicos con actividad biológica, destacando los ácidos hidroxicinámicos (específicamente cafeico y clorogénico), además de taninos condensados y flavonoides como la quercetina y catequinas. Investigaciones recientes indican que los lixiviados derivados de este residuo pueden registrar concentraciones fenólicas totales (*total phenolic content*, TPC) de hasta 11 649,7 µg GAE mL<sup>-1</sup>, lo que demuestra propiedades antifúngicas efectivas contra patógenos como el *Colletotrichum sp.* y la *Lasiodiplodia theobromae* (Ruiz-Molina et al., 2025). Asimismo, mediante procesos de extracción optimizados con etanol al 60 % a 78 °C durante 30 minutos, se han reportado rendimientos de 796 mg GAE/100 g en peso seco (Muñoz et al., 2025). Tales características ratifican al RB como un recurso renovable con abundantes carbohidratos estructurales y moléculas bioactivas, idóneo para la síntesis de biopolímeros y diversas aplicaciones biotecnológicas de valor añadido (Fiallos-Cardenas et al., 2025; Kumari et al., 2022).

Entre los bioproductos derivados de biomasa lignocelulósica, la celulosa bacteriana (CB) destaca por su elevada pureza, biocompatibilidad, biodegradabilidad y resistencia

mecánica (Guevara et al., 2025; Minardi et al., 2024; Nanda et al., 2022). Este biopolímero es sintetizado por bacterias aerobias de los géneros *Komagataeibacter* y *Gluconacetobacter*, que producen redes fibrilares tridimensionales altamente organizadas (Bhattacharya et al., 2021). Diversos estudios han reportado que, bajo determinadas condiciones de cultivo, estas estructuras pueden presentar dimensiones a escala nanométrica; sin embargo, la confirmación de dicha morfología requiere técnicas de caracterización directa, como la microscopía electrónica (Bhattacharya et al., 2021; Ono et al., 2022; Peretz et al., 2019).

No obstante, el escalamiento industrial de la producción de CB se encuentra limitado por el elevado costo de los sustratos convencionales, como glucosa y sacarosa, los cuales pueden representar hasta el 60 % del costo total de producción (Samanta et al., 2023). En consecuencia, la identificación de fuentes alternativas de carbono, abundantes y de bajo costo, constituye un factor crítico para su viabilidad económica.

En este contexto, el jugo de raquis de banano (JRB), obtenido como subproducto líquido durante el prensado mecánico del RB, se perfila como una fuente potencial de carbono fermentable (Fiallos-Cardenas et al., 2025). Aunque su caracterización composicional específica ha sido escasamente documentada, estudios previos indican que los tejidos estructurales de la *Musa* contienen azúcares reductores en concentraciones de 8,5 a 26,6 mg g<sup>-1</sup> de peso fresco, compuestos principalmente por glucosa y fructosa, con proporciones menores de sacarosa (Jeridi et al., 2023; Pereira et al., 2016). Asimismo, los sólidos solubles totales (°Brix) en jugos de banano varían entre 1,3 y 4,0 g/100 g PF, con pH entre 5,4 y 6,0 y contenidos fenólicos que pueden alcanzar 360 mg GAE/100 g PF en determinados cultivares (Almeida et al., 2013). Esta composición sugiere que el JRB podría emplearse como medio de fermentación sostenible para la producción de CB, siempre que se optimicen sus condiciones de fermentabilidad.

Con el fin de mejorar la disponibilidad de azúcares fermentables y reducir compuestos fenólicos potencialmente inhibitorios, la ozonización se ha propuesto como un pretratamiento oxidativo ambientalmente benigno. El ozono es capaz de degradar selectivamente estructuras aromáticas, incluyendo ácidos hidroxicinámicos y flavonoides, bajo condiciones suaves de operación, lo que minimiza la formación de subproductos indeseables como furfural o 5-hidroximetilfurfural (García-Cubero et al., 2009). Aunque este tratamiento ha sido ampliamente estudiado en matrices lignocelulósicas sólidas, su aplicación directa en matrices líquidas complejas como el JRB permanece escasamente explorada. Estudios preliminares sugieren que la exposición controlada al ozono puede disminuir el contenido fenólico y mejorar la calidad del medio fermentativo, lo que favorece el crecimiento microbiano (Arias-Roblero et al., 2021). No obstante, exposiciones prolongadas pueden inducir estrés metabólico por acumulación de especies reactivas de oxígeno, lo que afecta la viabilidad celular y limita la síntesis de celulosa (Ono et al., 2022; Peretz et al., 2019).

Debido a que la obtención de CB está condicionada por la interacción de diversos factores, tales como el tiempo de fermentación, la dosificación de ozono y la fracción volumétrica de JRB, el bioproceso manifiesta una naturaleza no lineal que exige el empleo de métodos estadísticos avanzados para su ajuste óptimo. En este sentido, el diseño Box-Behnken (BBD), en conjunto con la metodología de superficie de respuesta (MSR), constituye una herramienta eficaz para examinar no solo los efectos lineales y cuadráticos, sino también las interacciones entre las variables independientes. Esta aproximación permite maximizar el rendimiento en sistemas biotecnológicos de alta complejidad mediante la ejecución de un número optimizado de ensayos experimentales.

Bajo este panorama, la presente investigación se centró en el desarrollo y la optimización de la síntesis de celulosa bacteriana empleando JRB sometido a ozonización, aplicando para ello un diseño experimental Box-Behnken integrado a un modelo de superficie de respuesta. De igual manera, se procedió con la caracterización estructural y fisicoquímica del biopolímero resultante mediante técnicas de difracción de rayos X (XRD), espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y análisis termogravimétrico (TGA), con el propósito de ratificar la identidad celulósica de las fibras y examinar su estabilidad estructural. El flujo de trabajo incluyó además la validación del sistema optimizado a escala piloto en un biorreactor estático con capacidad de 20 L. En esta fase, se analizó el desempeño operativo bajo parámetros ampliados, priorizando el estudio de la autorregulación del pH y la influencia de la relación entre el área superficial y el volumen. Aunque el alcance de este trabajo no contempló el análisis morfológico por microscopía electrónica, los datos químicos y estructurales obtenidos son suficientes para confirmar la naturaleza del material. Esta metodología combina el aprovechamiento de subproductos agrícolas con herramientas estadísticas y análisis avanzado, lo que establece una ruta sostenible alineada con los principios de la bioeconomía circular en contextos agroindustriales tropicales.

## METODOLOGÍA

El estudio se estructuró en dos fases principales: la optimización de las condiciones de producción de CB mediante un diseño Box-Behnken (DBB), integrado en un modelo de superficie de respuesta (MSR), y la validación y el escalado del proceso utilizando análisis FTIR para corroborar la consistencia estructural del biopolímero obtenido bajo las condiciones óptimas.

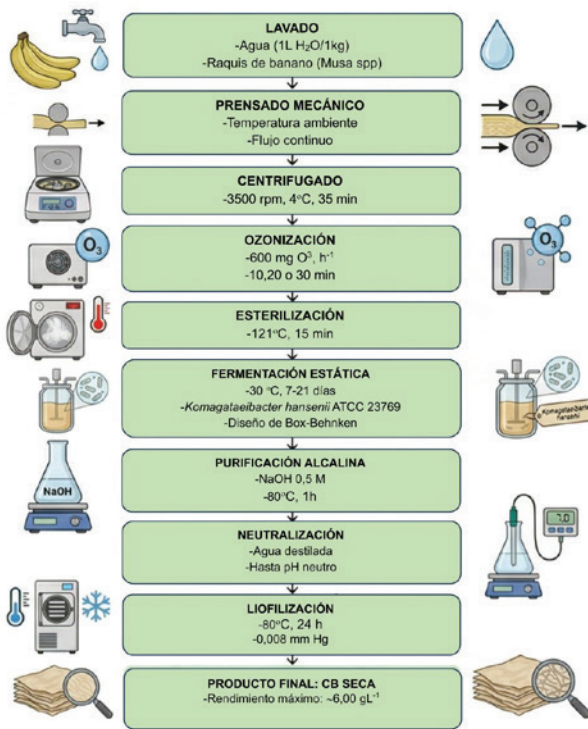
### Materias primas y preparación del JRB

El raquis de banano (*Musa acuminata*, subgrupo *Cavendish*) se recolectó en una plantación orgánica ubicada en Tres Postes, provincia del Guayas, Ecuador (-1,9837, -79,6114). Se seleccionaron treinta unidades libres de daño mecánico o signos de necrosis, con un peso promedio de  $2,0 \pm 0,5$  kg y una longitud aproximada de 50-70 cm.

La biomasa se lavó con agua corriente y esponjas suaves para eliminar residuos de látex. Posteriormente, para la extracción del jugo, el raquis se seccionó transversalmente y se procesó a temperatura ambiente en un molino de tres rodillos Fairuz eléctrico de 110 voltios (Ecuador), con un motor de 1 HP. Este procedimiento consistió en un prensado mecánico continuo que permitió exprimir y separar el exudado líquido de la matriz fibrosa sólida, adaptando la metodología descrita por Fiallos-Cárdenas et al. (2022). El flujo detallado de esta extracción y del bioproceso general se ilustra en la Figura 1.

Figura 1

Diagrama de flujo del bioproceso



Para la eliminación de partículas suspendidas, el JRB recolectado se centrifugó a 3500 rpm durante 35 minutos a una temperatura de 4 °C, empleando una unidad Thermo Scientific Sorvall ST 16R. El líquido resultante se sometió a esterilización en autoclave (Yamato Serie SM, Japón) bajo condiciones de 121 °C por 15 minutos. Finalmente, con el propósito de mitigar la fotodegradación de los elementos bioactivos, el sustrato estéril se resguardó en envases de vidrio ámbar a 4 °C dentro de un refrigerador especializado Infrico (modelo AGB 701 CR) (Pacheco et al., 2018).

### Formulación del medio y del inóculo

Se preparó una infusión de té verde ( $10 \text{ g L}^{-1}$ ) suplementada con azúcar moreno ( $83,3 \text{ g L}^{-1}$ ) y vinagre blanco ( $100 \text{ g L}^{-1}$ ). Posteriormente, el medio de cultivo se esterilizó a  $121 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 15 minutos, dejándose enfriar bajo condiciones estériles para evitar contaminación.

Las unidades experimentales consistieron en frascos de 250 mL con 100 mL de volumen de trabajo. Cada sistema fue inoculado con 10 % v/v (10 mL) de una suspensión activa de *Komagataeibacter hansenii* ATCC 23769. La cepa se cultivó previamente en medio Hestrin-Schramm (HS) a  $30 \text{ }^\circ\text{C}$  durante 48 horas bajo condiciones estáticas hasta alcanzar fase exponencial.

### Pretratamiento con ozono

El JRB se sometió a ozonización en un sistema cerrado con tapa de aluminio utilizando un generador GL-3189 ( $600 \text{ mg O}_2 \text{ h}^{-1}$ , China). El ozono gaseoso se burbujeó en 1 L de JRB mediante un difusor de piedra porosa durante 10, 20 o 30 minutos, manteniendo una temperatura de  $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  y presión atmosférica (1,02 atm).

La concentración de ozono disuelto se determinó mediante el método yodométrico descrito en el estándar APHA 4500- $\text{O}_2$  B. Tras el tratamiento, el JRB se aireó en condiciones estériles durante 5 minutos para eliminar el ozono residual y, posteriormente, se almacenó a  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  hasta su uso (Al-Baarri et al., 2019).

### Caracterización fisicoquímica del JRB y cuantificación de $\text{CO}_2$

Las propiedades fisicoquímicas del JRB se determinaron utilizando un equipo multiparámetro portátil (Hanna Instruments HI9829-02), siguiendo procedimientos estandarizados descritos en *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Viri, 2025). Se midieron el pH, el oxígeno disuelto (OD), la salinidad, los sólidos disueltos totales (SDT), la conductividad eléctrica y la resistividad. El pH fue verificado, adicionalmente, mediante un potenciómetro digital (APERA Instruments PC60), previamente calibrado con soluciones *buffer* certificadas a pH 4,00 y 7,00, a temperatura ambiente ( $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ ).

Para determinar la concentración de azúcares reductores, se empleó la técnica colorimétrica del ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), basada en el protocolo de Miller (1959), con ligeros ajustes. El procedimiento consistió en combinar volúmenes iguales (1 mL) de muestra y reactivo DNS, sometiendo la mezcla a un baño maría a  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  por un periodo de 5 minutos. Tras alcanzar la temperatura ambiente, las soluciones se diluyeron con 8 mL de agua destilada. La lectura de absorbancia se efectuó a 540 nm mediante un espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific Genesys 10S, utilizando celdas de cuarzo. Finalmente, los valores se convirtieron a unidades de  $\text{g L}^{-1}$  empleando una curva de calibración de glucosa ( $0^{-1} \text{ g L}^{-1}$ ) (Burgos Montañez, 2020).

La producción de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) se determinó por el método gravimétrico directo descrito por Irving et al. (2024), registrando la masa inicial ( $m_i$ ) y la final ( $m_f$ ) del sistema cerrado. La masa de CO<sub>2</sub> generada se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$m_{\text{CO}_2} = m_i - m_f,$$

donde  $m_{\text{CO}_2}$  representa la masa total de dióxido de carbono liberada durante la fermentación.

### Producción y optimización de CB mediante diseño Box-Behnken

Con el objetivo de optimizar la obtención de CB, se implementó un diseño experimental Box-Behnken estructurado en tres niveles y tres factores, lo que derivó en la ejecución de un total de quince ensayos o corridas experimentales. Los factores evaluados fueron:

$X_1$ : tiempo de ozonización (10, 20 y 30 minutos)

$X_2$ : fracción de JRB (25, 50 y 75 % v/v)

$X_3$ : tiempo de fermentación (7, 14 y 21 días)

El punto central del diseño se estableció en 20 minutos de ozonización, 50 % v/v de JRB y 14 días de fermentación. Luego, las fermentaciones se realizaron en condiciones estáticas a  $30 \pm 1$  °C y 70-80 % de humedad relativa. Todas las corridas se realizaron por triplicado.

Una vez concluidos los periodos de fermentación, se procedió a la recolección de las membranas de CB para su posterior purificación, la cual consistió en un tratamiento alcalino con NaOH 0,5 M a una temperatura de 80 °C por un lapso de una hora. El proceso de limpieza continuó con lavados sucesivos empleando agua destilada hasta verificar un pH neutro en el material. Finalmente, el biopolímero se sometió a una fase de liofilización bajo condiciones controladas (-80 °C, 0,008 mm Hg, 24 horas) durante 24 horas, utilizando para este fin un equipo Biosafer-10D (Pineda et al., 2012).

El rendimiento de la CB ( $Y$ , g L<sup>-1</sup>) se calculó mediante:

$$Y = \frac{W_d}{V},$$

donde  $W_d$  representa la masa seca de CB obtenida; y  $V$ , el volumen de reacción (0,1 L).

Se procedió con el ajuste de los valores obtenidos experimentalmente mediante una ecuación polinómica de segundo grado, empleando un modelo cuadrático para describir el sistema:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ij} X_i X_j + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \varepsilon,$$

donde  $\beta_0$  es el término independiente;  $\beta_i$ , los coeficientes lineales;  $\beta_{ij}$ , los coeficientes de interacción;  $\beta_{ii}$ , los términos cuadráticos; y  $\epsilon$ , el error experimental.

La significancia del modelo se evaluó mediante análisis de varianza (ANOVA), incluyendo pruebas de falta de ajuste. Se calcularon el coeficiente de determinación ajustado ( $R^2$ ), el error cuadrático medio (RMSE) y se generaron superficies de respuesta.

La validación de la condición óptima se realizó comparando el rendimiento experimental obtenido bajo las condiciones predichas por el modelo con el valor teórico estimado, calculando el error relativo porcentual.

El análisis estadístico se efectuó en RStudio (v2025.05.1+513) utilizando los paquetes tidyverse, multcomp y corrplot.

## Escalamiento y caracterización estructural

### *Escalamiento del proceso*

El proceso optimizado se escaló a un biorreactor estático de 20 L manteniendo similitud operativa con las condiciones de laboratorio. Se aplicaron las condiciones óptimas determinadas por el modelo MSR: 20 min de ozonización, 75 % v/v de JRB y 21 días de fermentación.

El medio se preparó manteniendo las mismas proporciones utilizadas a escala laboratorio: infusión de té verde ( $10 \text{ g L}^{-1}$ ), azúcar moreno ( $83,3 \text{ g L}^{-1}$ ), vinagre blanco ( $100 \text{ g L}^{-1}$ ) y 10 % v/v de inóculo.

El sistema operó sin aireación forzada ni control automático de pH, manteniendo una temperatura constante de  $30 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ . Los parámetros fisicoquímicos se monitorearon cada 48 horas para evaluar la estabilidad y reproducibilidad del proceso.

### *Análisis mediante espectroscopía infrarroja (FTIR-ATR)*

La recolección de los espectros FTIR-ATR se realizó utilizando un espectrómetro Spectrum GX (PerkinElmer, Estados Unidos), cubriendo una región de barrido de  $4000\text{-}500 \text{ cm}^{-1}$ , con una resolución de  $4 \text{ cm}^{-1}$  y un total de 32 escaneos por muestra. El procedimiento consistió en colocar las láminas secas de CB en contacto directo con el cristal de diamante del accesorio ATR, realizando los ajustes pertinentes de línea base y correcciones de fondo. Finalmente, los datos obtenidos del análisis espectral fueron procesados mediante el software OriginPro 9.0 (Xu et al., 2020).

### *X-ray Diffraction (XRD)*

Para el estudio de las propiedades cristalográficas, se empleó radiación  $\text{Cu K}\alpha_1$  ( $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ ) mediante un difractómetro configurado con haz paralelo. El equipo operó bajo parámetros de 45 kV y 200 mA utilizando un sistema de rendijas que incluyó una incidente de 0,2 mm,

una limitadora de longitud de 10 mm y un analizador de 0,5°. Esta metodología se basó en el procedimiento detallado por Fiallos-Cárdenas et al. (2021). Adicionalmente, la determinación del índice de cristalinidad (CrI) se realizó siguiendo el protocolo de Segal et al. (1959), aplicando la siguiente relación matemática. Antes, cabe resaltar que, para la determinación del grado de orden molecular, se aplicó el cálculo del índice de cristalinidad (CrI) fundamentado en la metodología de Segal:

$$CrI = \frac{(I_{200} - I_{am})}{I_{200}} \times 100,$$

donde  $I_{200}$  corresponde a la intensidad máxima del plano cristalino (200) y  $I_{am}$  a la intensidad del fondo amorfo.

#### *Análisis termogravimétrico (TGA)*

El comportamiento térmico de las muestras de CB liofilizadas se evaluó mediante un analizador termogravimétrico simultáneo (SDT Q600, TA Instruments, Estados Unidos). Muestras de aproximadamente 5-10 mg se colocaron en crisoles de alúmina y se sometieron a un programa de calentamiento desde temperatura ambiente hasta 800 °C, con una rampa de calentamiento de 10 °C min<sup>-1</sup>, bajo atmósfera inerte de nitrógeno con un flujo de 100 mL min<sup>-1</sup>. Se registraron simultáneamente las curvas de pérdida de masa (TGA). La temperatura de degradación máxima se determinó a partir de la derivada de la curva TGA (DTG). Este análisis permitió identificar las etapas de descomposición térmica, la pureza del material y la presencia de residuos carbonosos, siguiendo protocolos establecidos para celulosa bacteriana derivada de residuos agroindustriales (Nascimento et al., 2023).

El perfil térmico de las membranas de CB liofilizadas se analizó empleando un equipo de termogravimetría simultánea SDT Q600 (TA Instruments, Estados Unidos). El procedimiento consistió en depositar cantidades de entre 5 y 10 mg de muestra en crisoles de alúmina, iniciando un ciclo de calentamiento desde la temperatura ambiente hasta los 800 °C. Se aplicó una rampa de incremento térmico de 10 °C min<sup>-1</sup>, bajo un flujo constante de nitrógeno (100 mL min<sup>-1</sup>) para garantizar una atmósfera inerte. Durante el ensayo, se obtuvieron de forma simultánea las curvas de pérdida de masa (TGA), mientras que el punto de máxima degradación se calculó a partir de la derivada de dicha curva (DTG). Esta metodología facilitó la identificación de las fases de descomposición, el nivel de pureza del biopolímero y la cuantificación de residuos de carbono, siguiendo los estándares para CB de origen agroindustrial propuestos por Nascimento et al. (2023).

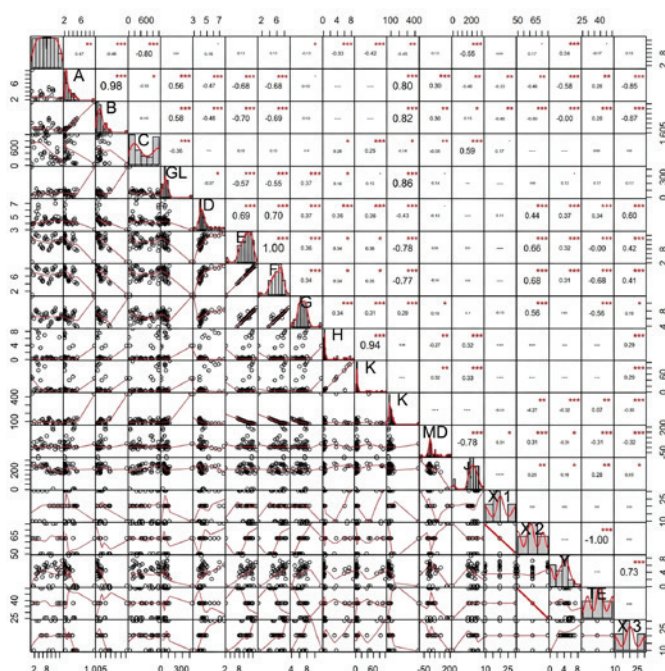
## RESULTADOS

### Análisis correlacional y relaciones entre parámetros fisicoquímicos

El análisis de correlaciones de Pearson (Figura 2) reveló interacciones complejas entre las variables fisicoquímicas durante la fermentación. Los parámetros °Brix, gravedad específica, turbidez, pH, conductividad y resistividad emergieron como los más influyentes, mientras que salinidad, glucosa, sólidos disueltos totales, tiempo de ozonización, masa de CO<sub>2</sub> y rendimiento de CB mostraron roles secundarios. Se observó una fuerte correlación entre °Brix y gravedad específica ( $r = 0,98$ ), validando el uso de °Brix como indicador indirecto de densidad del medio, aunque su correlación con glucosa y sólidos disueltos fue débil (Bonifazi et al., 2023).

Figura 2

Correlograma de Pearson que representa las correlaciones entre variables fisicoquímicas



Nota. Correlograma de Pearson. Diagonal: histogramas y densidad; inferior: diagramas de dispersión; superior: coeficientes  $r$  con niveles de significancia ( $*p < 0,05$ ,  $**p < 0,01$ ,  $***p < 0,001$ ).

Se identificaron interacciones críticas; por ejemplo, una correlación positiva moderada entre el tiempo de ozonización ( $X_1$ ) y la turbidez ( $r = 0,52$ ;  $p < 0,05$ ) sugiere que tratamientos prolongados incrementan la dispersión coloidal de componentes del raquis. Asimismo,

la masa de CO<sub>2</sub> (mCO<sub>2</sub>) actuó como un indicador indirecto de la actividad metabólica de *K. hansenii*, correlacionándose positivamente con el consumo de glucosa.

Los medios más densos y ricos en azúcares se asociaron con pH más bajo y menor conductividad, pero mayor resistividad, lo que refleja la acumulación de ácidos orgánicos durante la fermentación (Choudhary et al., 2024). La turbidez aumentó en medios menos ácidos y con mayor contenido iónico, y se incrementó con tiempos prolongados de ozonización, lo que favorece la dispersión coloidal y lo que podría afectar la viabilidad microbiana (Jahed et al., 2014). La masa de CO<sub>2</sub> se correlacionó con el consumo de glucosa, mientras que el rendimiento de CB dependió de la disponibilidad de glucosa y oxígeno, lo que confirma que condiciones aeróbicas y sustratos ricos en carbono favorecen la formación de biopelículas (Mulyono et al., 2024). Los coeficientes del modelo cuadrático ajustado que describen cuantitativamente el impacto de estos factores en el rendimiento de CB se detallan en la Tabla 1.

**Tabla 1**

*Coefficientes estimados del modelo cuadrático ajustado mediante diseño DBB para la predicción del rendimiento de CB (PM)*

| Parámetro                                       | Coefficiente | Error estándar | t-value | p-valor  | Significancia |
|---|--------------|----------------|---------|----------|---------------|
| Intercepto                                      | 12,87        | 6,15           | 2,09    | 0,03     | *             |
| TO (X <sub>1</sub> )                            | -0,07        | 0,13           | -0,58   | 0,55     | n.s.          |
| VOL (X <sub>2</sub> )                           | -0,68        | 0,17           | -3,98   | 0,0001   | ***           |
| TF (X <sub>3</sub> )                            | 1,024        | 0,13           | 7,39    | 1,79e-11 | ***           |
| TO-VOL (X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> )         | 0,0020       | 0,0015         | 1,33    | 0,18     | n.s.          |
| TO-TF (X <sub>1</sub> X <sub>3</sub> )          | 0,0017       | 0,0019         | 0,90    | 0,36     | n.s.          |
| VOL-TF (X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> )         | 0,0010       | 0,0016         | 0,60    | 0,54     | n.s.          |
| TO <sup>2</sup> (X <sub>1</sub> <sup>2</sup> )  | -0,0019      | 0,0021         | -0,93   | 0,35     | n.s.          |
| VOL <sup>2</sup> (X <sub>2</sub> <sup>2</sup> ) | 0,0052       | 0,0013         | 3,99    | 0,0001   | ***           |
| TF <sup>2</sup> (X <sub>3</sub> <sup>2</sup> )  | -0,0218      | 0,0020         | -10,66  | <0,0001  | ***           |

*Nota.* Los coeficientes estimados corresponden a un modelo de regresión cuadrática de superficie de respuesta. Se reportan los errores estándar, valores t y niveles de probabilidad (p-valor). Los símbolos de significancia indican: \*\*\*  $p < 0,001$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*  $p < 0,05$  y n.s. (no significativo)  $p \geq 0,05$ .

### Rendimiento de CB y validación del modelo

En la Tabla 2, se muestra la matriz experimental del diseño Box-Behnken con los rendimientos de CB obtenidos (expresados en g L<sup>-1</sup> de medio) y los valores predichos por el modelo.

**Tabla 2**

Diseño experimental utilizando el Box-Behnken

| N.º | $X_1$ | $X_2$ | $X_3$ | Y(g/L) |                 |
|-----|-------|-------|-------|--------|-----------------|
|     |       |       |       | 2(DBB) | 1(Experimental) |
| 1   | -1    | -1    | 0     | 4,81   | 4,70±0,10       |
| 2   | 1     | -1    | 0     | 4,46   | 3,90±1,04       |
| 3   | -1    | 1     | 0     | 5,03   | 5,90±0,96       |
| 4   | 1     | 1     | 0     | 5,93   | 5,70±0,62       |
| 5   | -1    | 0     | -1    | 0,00   | 0,00±0,00       |
| 6   | 1     | 0     | -1    | 0,00   | 0,00±0,00       |
| 7   | -1    | 0     | 1     | 4,21   | 3,40±1,47       |
| 8   | 1     | 0     | 1     | 4,71   | 4,44±0,73       |
| 9   | 0     | -1    | -1    | 0,31   | 0,00±0,00       |
| 10  | 0     | 1     | -1    | 0,79   | 0,00±0,00       |
| 11  | 0     | -1    | 1     | 4,99   | 5,80±2,51       |
| 12  | 0     | 1     | 1     | 5,95   | 6,00±0,56       |
| 13  | 0     | 0     | 0     | 4,37   | 3,00±0,90       |
| 14  | 0     | 0     | 0     | 4,37   | 4,80±0,72       |
| 15  | 0     | 0     | 0     | 4,37   | 5,70±1,69       |

Nota. Los ensayos 13, 14 y 15 corresponden a los puntos centrales del diseño, establecidos en 20 minutos de ozonización ( $X_1$ ), 50 % v/v de fracción de JRB ( $X_2$ ) y 14 días de fermentación ( $X_3$ ). Estos puntos permitieron una estimación precisa del error puro del modelo.

Los resultados experimentales mostraron que fermentaciones de 7 días ( $X_3 = -1$ ) no produjeron CB detectable, lo que indicó que este periodo es insuficiente para el crecimiento logarítmico de *K. hansenii* y la formación del polímero. Los mayores rendimientos se alcanzaron a los 21 días de fermentación ( $X_3 = 1$ ), destacando los ensayos 11 ( $5,80 \pm 2,51 \text{ g L}^{-1}$ ) y 12 ( $6,00 \pm 0,56 \text{ g L}^{-1}$ ). Este último corresponde a la condición con mayor fracción de JRB (75% v/v) y tiempo de ozonización intermedio (20 minutos).

Se observó que una mayor fracción de JRB ( $X_2 = 75 \%$  v/v, equivalente a 75 mL en 100 mL de medio) favoreció la producción de CB en comparación con fracciones menores, como se ejemplifica al comparar el ensayo 3 ( $5,90 \pm 0,96 \text{ g L}^{-1}$ ) con el ensayo 1 ( $4,70 \pm 0,10 \text{ g L}^{-1}$ ), ambos con 14 días de fermentación. Esto respalda la importancia de la relación superficie/volumen y la disponibilidad de sustrato en fermentaciones estáticas (Lima et al., 2017).

Respecto a la variable del tiempo de ozonización ( $X_1$ ), aunque no mostró una significancia estadística determinante, se identificó un comportamiento de naturaleza no lineal. Específicamente, el tratamiento de 20 minutos exhibió una mayor eficacia en comparación con el de 30 minutos al interactuar con concentraciones elevadas de JRB. Se

observó que una exposición prolongada al ozono (30 minutos) derivó en un incremento de la turbidez en el medio de cultivo, como se evidencia en el ensayo 8 ( $4,44 \pm 0,73 \text{ g L}^{-1}$ ), lo cual sugiere una posible liberación de sustancias coloidales. No obstante, este fenómeno también podría estar asociado con la inducción de estrés metabólico provocado por la acumulación de especies reactivas de oxígeno, un factor que restringe la biosíntesis del polímero.

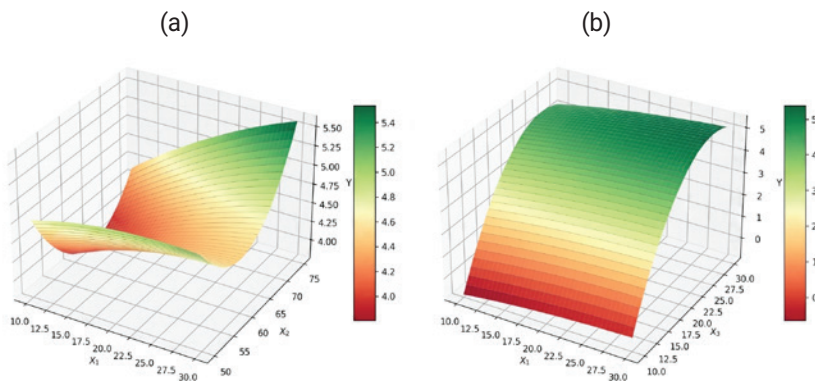
La capacidad predictiva del modelo MSR demostró una alta fidelidad respecto a los datos experimentales, lo que ha registrado márgenes de error relativo próximos al 2 % en aquellos escenarios con síntesis efectiva de polímero. De igual manera, el modelo estimó con acierto la nula obtención de biomasa en los periodos de fermentación de 7 días, lo que validó su robustez para identificar los límites operativos del sistema.

### Ajuste del modelo estadístico mediante MSR

Mediante la implementación del BBD fue posible establecer un modelo matemático que describe la síntesis de CB en función de las variables evaluadas. El modelo cuadrático presentó un  $R^2 = 0,7894$ , considerado aceptable dada la complejidad y heterogeneidad del sustrato agroindustrial. Las variaciones observadas en la variable de respuesta (Tabla 2), que en algunos casos superan el 40 % (especialmente en el punto central), se atribuyen a la sensibilidad del microorganismo ante la variabilidad nutricional del sustrato orgánico y posibles efectos del estrés oxidativo residual (Saleh et al., 2021).

### Figura 3

Superficies de respuesta del modelo MSR para la producción de CB



Nota. Gráficas de superficie de respuesta para la variable Y en función de las interacciones entre los factores analizados. (a) Interacción  $X_1$  vs.  $X_2$ ; (b) Interacción  $X_1$  vs.  $X_3$ . Las gradientes de color indican las zonas de optimización (verde para valores máximos y rojo para mínimos), lo que evidencia la curvatura significativa de los efectos cuadráticos en el sistema.

Las superficies de respuesta (Figura 3) confirmaron los hallazgos del modelo: el rendimiento mostró una variación mínima frente a  $X_1$  (tiempo de ozonización), mientras que los incrementos en  $X_2$  (fracción de JRB) y  $X_3$  (tiempo de fermentación) promovieron rendimientos máximos, con un óptimo en el límite superior del rango evaluado (21 días). Estos resultados coinciden con estudios previos que destacan el tiempo de fermentación y la disponibilidad de sustrato como impulsores clave en la síntesis de biopolímeros, mientras que factores como el tiempo de oxidación presentan un impacto menor o no significativo (Wang et al., 2017).

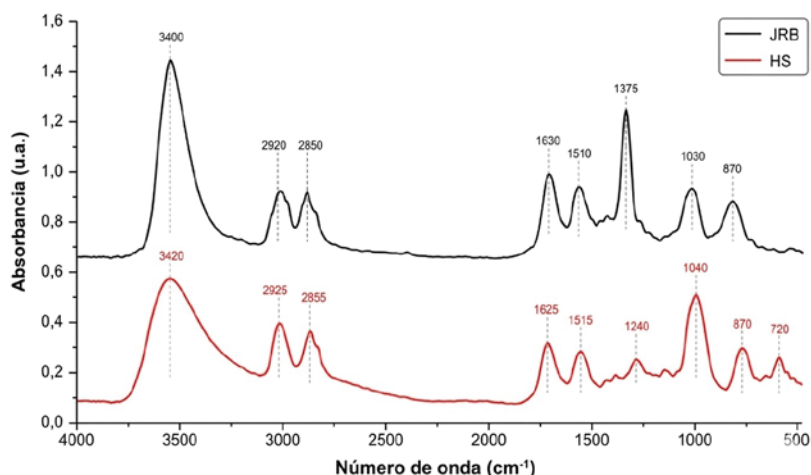
## Caracterización estructural por FTIR-ATR, XRD y TGA

### Caracterización estructural, térmica y mecánica

La espectroscopía FTIR confirmó la integridad estructural y la pureza de la CB obtenida a partir de JRB pretratado con ozono. Esto evidenció, en la Figura 4, bandas características de celulosa tipo I comparables con las de una muestra estándar cultivada en medio Hestrin-Schramm (HS). En particular, la banda ancha alrededor de  $\sim 3400\text{ cm}^{-1}$  en la muestra JRB indica una mayor densidad de grupos hidroxilo (-OH), lo que sugiere una funcionalización superficial superior (Figura 4). Asimismo, las bandas en el intervalo de  $2893\text{-}2854\text{ cm}^{-1}$  corroboran su naturaleza polisacáridica y reflejan la influencia del sustrato sobre la organización molecular.

### Figura 4

FTIR comparativo de JRB y muestra estándar cultivada HS



Nota. El espectro FTIR compara la celulosa bacteriana obtenida de JRB (negro) y la muestra estándar HS (rojo). Se indican las principales bandas características de celulosa tipo I, con sus respectivos números de onda asignados a los grupos funcionales más relevantes.

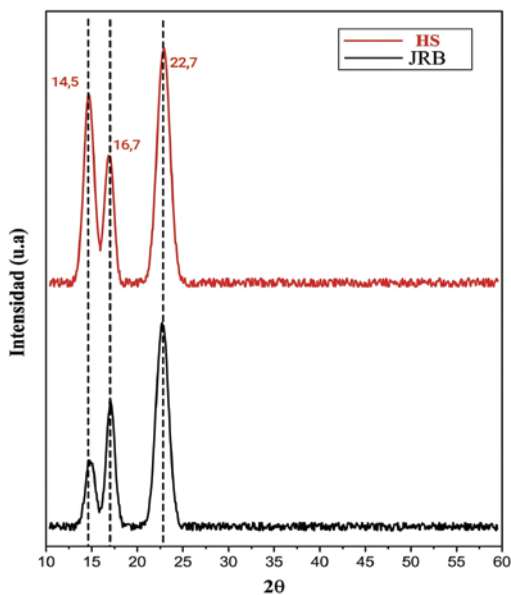
Las señales detectadas en el rango de  $1625\text{-}1630\text{ cm}^{-1}$  se vinculan primordialmente con las vibraciones de deformación del agua adsorbida en la matriz, pudiendo incluir aportes de grupos carbonilo. Por otro lado, las bandas localizadas entre  $1160\text{-}1030\text{ cm}^{-1}$  se atribuyen a las vibraciones de los enlaces C–O–C y C–O, las cuales son distintivas de los polisacáridos. Esto ratifica la preservación de la arquitectura molecular basada en enlaces  $\beta\text{-}1,4\text{-glucosídicos}$  (Syafri et al., 2022). De manera integral, estos hallazgos demuestran que, aun con las variaciones superficiales derivadas del uso de JRB y la ozonización, la CB sintetizada conserva una integridad estructural análoga a la obtenida en sustratos tradicionales, lo que consolida su viabilidad para aplicaciones en los sectores biotecnológico y biomédico.

### Difracción de rayos X

La caracterización estructural se complementó mediante el análisis por difracción de rayos X (XRD), cuyos resultados se presentan en la Figura 5. Los perfiles de difracción obtenidos para ambas muestras exhibieron las señales distintivas de la celulosa tipo I. Específicamente, se identificaron máximos de intensidad en ángulos  $2\theta \approx 14,5^\circ$ ,  $16,8^\circ$  y  $22,7^\circ$ , los cuales se asocian a los planos cristalográficos  $(\bar{1}\bar{1}0)$ ,  $(110)$  y  $(200)$ , respectivamente.

Figura 5

Difractogramas de rayos X de CB producida en JRB y en medio HS



Nota. Diffractogramas XRD de celulosa bacteriana (JRB vs HS). Las señales marcadas corresponden a reflexiones típicas de la estructura cristalina de celulosa tipo I.

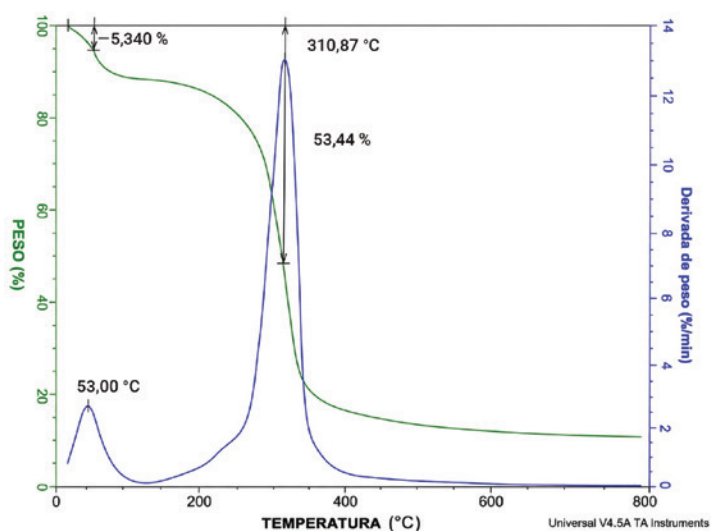
El índice de cristalinidad (CrI), calculado según el método de Segal et al. (1959), fue de 67,9 % para la muestra producida en JRB, valor inferior al 81,6 % determinado para la muestra cultivada en medio HS. Esta reducción en la cristalinidad sugiere que la complejidad del sustrato JRB y el pretratamiento con ozono pueden influir en la organización molecular del polímero, aunque sin comprometer su estructura fundamental de celulosa tipo I. Estos resultados indican que, a pesar de las modificaciones superficiales inducidas, la CB obtenida mantiene propiedades estructurales adecuadas para potenciales aplicaciones biomédicas y biotecnológicas.

### Análisis termogravimétrico (TGA/DTG)

A través del análisis termogravimétrico (TGA) y su correspondiente derivada (DTG), se evaluó el comportamiento de la muestra T8-CB (con una masa inicial de 8,2920 mg empleando el sistema SDT Q600). Como se observa en la Figura 6, los resultados obtenidos muestran un perfil de degradación térmica propio de una CB con un elevado grado de pureza. Este registro permite confirmar la estabilidad del polímero frente a incrementos de temperatura, lo que valida la eficacia del proceso de síntesis.

**Figura 6**

*Curvas termogravimétricas y termogravimétrica derivada de la CB obtenida en condiciones óptimas*



*Nota.* Curvas obtenidas por termogravimetría (TGA, en verde) y su primera derivada (DTG, en azul) de una muestra de celulosa bacteriana (T8-CB)

El análisis TGA evidencia tres etapas de descomposición térmica bien definidas para la muestra obtenida. La primera, situada entre 50-150 °C, corresponde a la pérdida de agua adsorbida y ligada a los grupos hidroxilo de la celulosa, lo que representan un 5,34 % de la masa inicial (Barbadillo Jove, 2015). Esta deshidratación inicial, que se manifiesta con un pico de máxima velocidad de pérdida de peso en la curva DTG a 53 °C, es indicativa de una alta capacidad de retención de agua, propiedad intrínseca de la estructura fibrilar y la elevada área superficial de la celulosa bacteriana (Abdel Hakim & Mourad, 2023).

La segunda etapa presenta un pico máximo de degradación en la derivada del peso (DTG) a 310,87 °C, lo cual representa la descomposición térmica principal del polímero. Este fenómeno se atribuye a la despolimerización de las cadenas mediante la ruptura de los enlaces glucosídicos  $\beta$ -1,4 y la consecuente formación de compuestos volátiles como el levoglucosano (Borsoi et al., 2016). Esta etapa concentra la mayor pérdida de masa del material (53,44 %), un valor consistente con la estabilidad térmica reportada para celulosa bacteriana purificada y sintetizada a partir de residuos del género *Musa* (Valenzuela-Cobos et al., 2024). Notablemente, la ausencia de eventos de degradación significativos en el rango de 200-250 °C sugiere la eliminación efectiva de componentes no celulósicos como hemicelulosa y lignina mediante el pretratamiento con ozono, lo que confirma la pureza del material obtenido (Tamo et al., 2025).

Por último, por encima de 350 °C se observa la formación de un residuo carbonoso final inferior al 15 % a 800 °C, lo que refuerza la naturaleza orgánica y la homogeneidad de la muestra (Huang et al., 2016; Zahan et al., 2015).

En conjunto, los resultados de FTIR, XRD y TGA confirman de manera consistente la naturaleza celulósica del material obtenido y evidencian que el pretratamiento aplicado no altera su comportamiento térmico característico. No obstante, debido a la ausencia de caracterización morfológica mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), no es posible determinar el diámetro de las fibras ni confirmar de manera concluyente su escala nanométrica (Bhattacharya et al., 2021). Por lo tanto, aunque las propiedades químicas y térmicas son compatibles con la celulosa, esta clasificación no puede establecerse únicamente con las técnicas empleadas en este estudio.

## DISCUSIÓN

La producción de CB a partir de JRB pretratado con ozono demostró ser una alternativa viable, pues alcanzó rendimientos máximos de  $6,00 \pm 0,56 \text{ g L}^{-1}$ . Estos valores superan lo reportado para diversos sustratos agroindustriales bajo condiciones estáticas, como el jugo de sisal (Lima et al., 2017) y los extractos foliares de banano (Fiallos-Cárdenas et al., 2021). Este incremento en el rendimiento puede atribuirse principalmente a la optimización de la fracción volumétrica del sustrato y del tiempo de fermentación, variables identificadas como significativas por el modelo de superficie de respuesta (Wang et al., 2017).

El efecto del pretratamiento con ozono sobre la producción de CB fue limitado, con una tendencia no lineal. Aunque tiempos intermedios de ozonización (20 minutos) se asociaron con mayores rendimientos, el análisis estadístico indicó que este factor no fue significativo ( $p > 0,05$ ). Además, exposiciones prolongadas (30 minutos) se asociaron con una reducción en la producción, lo que sugiere que la generación de especies reactivas de oxígeno podría inducir estrés oxidativo en *K. hansenii*, lo que afectaría su actividad metabólica. Este comportamiento coincide con lo reportado en la literatura, donde el ozono puede ejercer efectos duales dependiendo de la dosis y el tiempo de exposición (Ono et al., 2022; Peretz et al., 2019).

En cuanto a la caracterización estructural, los análisis FTIR y XRD confirmaron la presencia de celulosa tipo I con alta pureza, evidenciada por la ausencia de señales atribuibles a lignina o hemicelulosa. Los análisis TGA mostraron un perfil térmico característico de la CB, con una pérdida principal de masa alrededor de 310 °C y ausencia de eventos térmicos en el rango de 200-250 °C, lo que refuerza la pureza del material. Cabe señalar que estos resultados no permiten atribuir de manera directa este nivel de pureza al pretratamiento con ozono, ya que la fermentación bacteriana por sí misma puede generar celulosa altamente pura.

Aunque en este estudio no se realizó caracterización morfológica mediante microscopía electrónica (SEM o TEM), diversos estudios han reportado que cepas del género *Komagataeibacter* producen redes de celulosa con diámetros en el rango nanométrico (Bhattacharya et al., 2021; Ono et al., 2022). No obstante, se recomienda que futuros estudios confirmen directamente la morfología del material obtenido a partir de JRB. En este sentido, los resultados obtenidos sugieren que el medio basado en JRB permite la formación de la estructura  $\beta$ -1,4-glucosídica característica, aunque con una ligera reducción en la cristalinidad (67,9 %) respecto del medio estándar Hestrin-Schramm (81,6 %). Esta diferencia podría estar relacionada con la complejidad del sustrato más que con el efecto del ozono.

Desde una perspectiva funcional, la menor cristalinidad observada (67,9 %), en comparación con el medio estándar HS (81,6 %), sugiere una posible mayor flexibilidad y capacidad de retención de agua, propiedades que podrían ser favorables en aplicaciones biomédicas como apósitos o hidrogeles. No obstante, esta hipótesis requiere una validación experimental mediante ensayos mecánicos y de absorción.

El escalamiento del proceso a un biorreactor estático de 20 L confirmó la viabilidad del sistema bajo condiciones controladas. En estos sistemas, la relación entre el área superficial y el volumen, así como la disponibilidad de oxígeno, son factores críticos. En este estudio, la estabilidad del pH y la temperatura (30 °C) contribuyeron a evitar la acidificación excesiva del medio, un fenómeno común en fermentaciones con sustratos ricos en azúcares (Minardi et al., 2024).

En conclusión, los hallazgos de esta investigación consolidan al JRB como un recurso con alto potencial biotecnológico bajo un modelo de bioeconomía circular. En Ecuador, donde la industria del banano produce cantidades masivas de subproductos, la transformación de estos desechos mediante técnicas biotecnológicas representa una vía efectiva para mitigar el deterioro ambiental y fomentar la producción de materiales biológicos con alto valor comercial (Alzate Acevedo et al., 2021).

## CONCLUSIÓN

Los resultados de esta investigación ratifican al JRB como una materia prima sostenible y técnicamente viable para la obtención de CB, posicionándose como una solución estratégica para el aprovechamiento de desechos agrícolas. Mediante la aplicación del diseño Box-Behnken y el análisis de superficie de respuesta, se determinó que el volumen de sustrato y el periodo de incubación son las variables con mayor impacto sobre la productividad, a diferencia de la ozonización, cuyo efecto careció de significancia estadística. Bajo parámetros optimizados, se lograron rendimientos de  $6,00 \pm 0,56 \text{ g L}^{-1}$ , cifras que igualan o superan lo documentado en estudios previos sobre fermentación estática con otros residuos.

Asimismo, la transición del proceso a un biorreactor de 20 L validó la factibilidad técnica del sistema, conservando una operatividad estable y resultados de producción alineados con los ensayos de laboratorio. Mediante las técnicas de TGA, XRD y FTIR, se confirmó la síntesis de celulosa tipo I de elevada pureza y estabilidad térmica. No obstante, es importante señalar que dicha pureza no puede vincularse exclusivamente al uso de ozono, debido a la alta selectividad natural de la bacteria. En conclusión, el uso del JRB integrado a modelos de optimización estadística representa una ruta eficaz para generar biopolímeros de alto valor, si bien la variabilidad propia de los sustratos orgánicos plantea el reto de estandarizar los medios de cultivo y profundizar en el análisis funcional del material en futuras etapas.

## CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

## CONTRIBUCIÓN DE AUTORES

**Andres Joel Zeas Sesme:** conceptualización, *data curation*, análisis formal, adquisición de fondos, investigación, metodología, administración de proyecto. **Thaily Jazmin Martínez Castillo:** conceptualización, investigación, metodología, recursos, supervisión, validación, redacción: revisión y edición. **Manuel Fiallos-Cárdenas:** análisis formal, administración

de proyecto, recursos, *software*, visualización, escritura: borrador original, redacción: revisión y edición.

## DECLARACIÓN SOBRE EL USO DE LA IA GENERATIVA

Los autores utilizaron herramientas de IA generativa únicamente para mejorar la redacción, gramática y claridad del manuscrito. La interpretación de resultados, análisis y conclusiones corresponden exclusivamente a los autores.

## REFERENCIAS

- Abdel Hakim, A., & Mourad, R. (2023). Nanocellulose and its polymer composites: Preparation, characterization, and applications. *Russian Chemical Reviews*, 92(4). <https://doi.org/10.57634/RCR5076>
- Abdoussalami, A., Hu, Z., Islam, A. R. M. T., & Wu, Z. (2023). Climate change and its impacts on banana production: A systematic analysis. *Environment, Development and Sustainability*, 25(11), 12217-12246. <https://doi.org/10.1007/s10668-023-03168-2>
- Al-Baarri, A. N., Legowo, A. M., Abduh, S. B. M., Mawarid, A. A., Farizha, K. M., & Silvia, M. (2019). Production of ozone and the simple detection using potassium iodide titration method. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 292(1), 12062. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/292/1/012062>
- Almeida, D. M., Aparecida Prestes, R., Fonseca, A. F. da, Woiciechowski, A. L., & Wosiacki, G. (2013). Minerals consumption by *Acetobacter xylinum* on cultivation medium on coconut water. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(1), 197-206. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013005000012>
- Alzate Acevedo, S., Díaz Carrillo, Á. J., Flórez-López, E., & Grande-Tovar, C. D. (2021). Recovery of banana waste-loss from production and processing: A contribution to a circular economy. *Molecules*, 26(17), 5282. <https://doi.org/10.3390/molecules26175282>
- Arias-Roblero, M., Mora-Villalobos, V., & Velazquez-Carrillo, C. (2021). Evaluation of fed-batch fermentation for production of polyhydroxybutyrate with a banana pulp juice substrate from an agro industrial by-product. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.681596>
- Barbadillo Jove, F. (2015). *Estudio cinético de degradación térmica de poliuretanos mediante análisis termogravimétrico (TGA)* [Tesis doctoral, Universidad de La Coruña]. Repositorio Instucional da Universidade da Coruña. <http://hdl.handle.net/2183/14521>

- Bhattacharya, A., Sadaf, A., Dubey, S., Singh, R. P., & Khare, S. K. (2021). Production and characterization of *Komagataeibacter xylinus* SGP8 nanocellulose and its calcite based composite for removal of Cd ions. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 46423-46430. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08845-7>
- Bonifazi, G., Gasbarrone, R., & Serranti, S. (2023). Evaluation of sugar content in hopped wort of artisanal beer by shortwave infrared spectroscopy. En M. S. Kim & B.-K. Cho (Eds.), *Sensing for agriculture and food quality and safety XV*. SPIE Defense + Commercial Sensing. <https://doi.org/10.1117/12.2663382>
- Borsoi, C., Zimmernnam, M. V. G., Zattera, A. J., Santana, R. M. C., & Ferreira, C. A. (2016). Thermal degradation behavior of cellulose nanofibers and nanowhiskers. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 126, 1867-1878. <https://doi.org/10.1007/s10973-016-5653-x>
- Burgos Montañez, L. J. (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>
- Choudhary, A., Kumar, A., Kandpal, R., Gupta, A. K., Jha, A. K., Naik, B., Kumar, V., Rustagi, S., Chutia, H., & Khan, J. M. (2024). Evaluation of secondary metabolites, nutraceutical potential and amino acid profile of fresh dates (*Phoenix dactylifera*) alcoholic beverage. *Discover Food*, 4, Artículo 53. <https://doi.org/10.1007/s44187-024-00137-0>
- Deumaga, M. F. T., Emaga, T. H., Tchokouassom, R., Vanderghem, C., Aguedo, M., Gillet, S., Jacquet, N., Danthine, S., Magali, D., & Richel, A. (2015). Genotype contribution to the chemical composition of banana rachis and implications for thermo/biochemical conversion. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 5, 409-416. <https://doi.org/10.1007/s13399-015-0158-6>
- Fiallos-Cardenas, M., Gavin, C., Huilcarema-Enríquez, K., Cumbicus-Bravo, A., & Pozo, F. (2025). Innovation in obtaining bacterial nanocellulose from banana rachis: Effects of ozone treatment. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 11, 101044. <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2024.101044>
- Fiallos-Cárdenas, M., Pérez-Martínez, S., & Ramirez, A. D. (2022). Perspectives for the development of a circular bioeconomy around the banana value chain. *Sustainable Production and Consumption*, 30, 541-555. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2021.12.014>
- Fiallos-Cárdenas, M., Ramirez, A. D., Pérez-Martínez, S., Bonilla, H. R., Ordoñez-Viñan, M., Ruiz-Barzola, O., & Reinoso, M. A. (2021). Bacterial nanocellulose derived from banana leaf extract: Yield and variation factors. *Resources*, 10(12), 121. <https://doi.org/10.3390/resources10120121>

- García-Cubero, M. T., González-Benito, G., Indacochea, I., Coca, M., & Bolado, S. (2009). Effect of ozonolysis pretreatment on enzymatic digestibility of wheat and rye straw. *Bioresource Technology*, *100*(4), 1608-1613. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.09.012>
- Guevara, K. M., Martínez-Valenzuela, G., Sánchez-Vásquez, V., Guerrero-Ruiz, K., & Fiallos-Cárdenas, M. (2025). Trends and perspectives on bacterial nanocellulose: A comprehensive analysis from the three helixes of innovation. *Materials Today Sustainability*, *30*, Artículo 101090. <https://doi.org/10.1016/j.mtsust.2025.101090>
- Huang, C., Guo, H.-J., Xiong, L., Wang, B., Shi, S.-L., Chen, X.-F., Lin, X.-Q., Wang, C., Luo, J., & Chen, X.-D. (2016). Using wastewater after lipid fermentation as substrate for bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. *Carbohydrate Polymers*, *136*, 198-202. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.043>
- Irving, D., Bakhshandeh, S., Tran, T. K. A., & McBratney, A. B. (2024). A cost-effective method for quantifying soil respiration. *Soil Security*, *16*, 100162. <https://doi.org/10.1016/j.soisec.2024.100162>
- Jahed, E., Khodaparast, M. H. H., & Mousavi Khaneghah, A. (2014). Bentonite, temperature and pH effects on purification indexes of raw sugar beet juice to production of inverted liquid sugar. *Applied Clay Science*, *102*, 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2014.09.036>
- Jeridi, M., Siddiqui, S., Siddiqua, A., Moneim, D. A., Aika, E. A. M., Zahrani, F., Essenidi, M., & Ferchichi, A. (2023). Nutritional analysis of fresh banana fruits (*Musa spp.*) grown in South Tunisia. *Bangladesh Journal of Botany*, *52*(2), 253-260. <https://doi.org/10.3329/bjb.v52i2.67010>
- Kumari, P., Ravi Kiran, B., & Venkata Mohan, S. (2022). Polyhydroxybutyrate production by *Chlorella sorokiniana* SVMIICT8 under nutrient-deprived mixotrophy. *Bioresource Technology*, *354*, Artículo 127135. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127135>
- Lima, H. L. S., Nascimento, E. S., Andrade, F. K., Brígida, A. I. S., Borges, M. F., Cassales, A. R., Muniz, C. R., Souza Filho, M. D. S. M., Morais, J. P. S., & Rosa, M. D. F. (2017). Bacterial cellulose production by *Komagataeibacter hansenii* ATCC 23769 using sisal juice—An agroindustry waste. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, *34*(3), 671-680. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20170343s20150514>
- Martínez-Solórzano, G. E., & Rey-Brina, J. C. (2021). Bananos (*Musa AAA*): importancia, producción y comercio en tiempos de COVID-19. *Agronomía Mesoamericana*, *32*(3), 1034-1046. <https://doi.org/10.15517/am.v32i3.43610>

- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Minardi, C., Bersanetti, D., Sarlin, E., Santala, V., & Mangayil, R. (2024). Optimization of citrus pulp waste-based medium for improved bacterial nanocellulose production. *Microorganisms*, 12(10), 2095. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12102095>
- Mulyono, Nurbaiti, Rilyanti, M., & Herasari, D. (2024). Liquid pineapple waste as substrate for the production of bacterial nanocellulose (BNC) by local isolated microbe Kc-D-4. *AIP Conference Proceedings*, 2970(1), 60013. <https://doi.org/10.1063/5.0210870>
- Muñoz S., K., Ponce G., M., Burgos B., G., Alcívar C., U., & Munizaga P., D. (2025). Capacidad antioxidante y composición fenólica en extractos de cerveza artesanal tipo ale. *infoANALÍTICA*, 13(1), 45-75. <https://doi.org/10.26807/ia.v13i1.283>
- Nanda, S., Patra, B. R., Patel, R., Bakos, J., & Dalai, A. K. (2022). Innovations in applications and prospects of bioplastics and biopolymers: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 20, 379-395. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01334-4>
- Nascimento, R., Carvalheira, M., Crespo, J., & Neves, L. (2023). Extraction and characterization of cellulose obtained from banana plant pseudostem. *Clean Technologies*, 5(3), 1028-1043. <https://doi.org/10.3390/cleantechnol5030052>
- Ono, Y., Takeuchi, M., Kimura, S., Puangsin, B., Wu, C.-N., & Isogai, A. (2022). Structures, molar mass distributions, and morphologies of TEMPO-oxidized bacterial cellulose fibrils. *Cellulose*, 29(9), 4977-4992. <https://doi.org/10.1007/s10570-022-04617-3>
- Pacheco, G., Mello, C. V. de, Chiari-Andréo, B. G., Isaac, V. L. B., Ribeiro, S. J. L., Pecoraro, É., & Trovatti, E. (2018). Bacterial cellulose skin masks-properties and sensory tests. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 17(5), 840-847. <https://doi.org/10.1111/jocd.12441>
- Pereira, B., Li, Z.-J., De Mey, M., Lim, C. G., Zhang, H., Hoeltgen, C., & Stephanopoulos, G. (2016). Efficient utilization of pentoses for bioproduction of the renewable two-carbon compounds ethylene glycol and glycolate. *Metabolic Engineering*, 34, 80-87. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2015.12.004>
- Peretz, R., Sterenzon, E., Gerchman, Y., Kumar Vadivel, V., Luxbacher, T., & Mamane, H. (2019). Nanocellulose production from recycled paper mill sludge using ozonation pretreatment followed by recyclable maleic acid hydrolysis. *Carbohydrate Polymers*, 216, 343-351. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.04.003>
- Pineda, L., Caicedo, L. M., & Riascos, C. (2012). Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión. *Ingeniería y Ciencia*, 8(16), 307-335. <https://doi.org/10.17230/ingciencia.8.16.12>

- Ruiz-Molina, V. E., Soriano-Melgar, L. de A. A., Cortez-Mazatán, G. Y., Hernández-Zárate, G., Castillo-Zamudio, R. I., Flores-Estévez, N., Peralta-Rodríguez, R. D., & Noa-Carrazana, J. C. (2025). The potential effect of banana by-products on the *in vitro* inhibition of *Lasiodiplodia theobromae* and *Colletotrichum* sp. *Journal of Agriculture and Food Research*, 22, 102055. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2025.102055>
- Saleh, A. K., El-Gendi, H., Ray, J. B., & Taha, T. H. (2021). A low-cost effective media from starch kitchen waste for bacterial cellulose production and its application as simultaneous absorbance for methylene blue dye removal. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13, 12437-12449. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01973-1>
- Samanta, P., Senapati, T., Dey, S., & Ghosh, A. R. (2023). An overview of biomass conversion from agricultural waste: Address on environmental sustainability. En S. Singh, P. Singh, A. Sharma & M. Choudhury (Eds.), *Agriculture Waste Management and Bioresource: The Circular Economy Perspective* (pp. 46-77). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119808428.ch3>
- Segal, L., Creely, J. J., Martin, A. E. Jr., & Conrad, C. M. (1959). An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-Ray diffractometer. *Textile Research Journal*, 29(10), 786-794. <https://doi.org/10.1177/004051755902901003>
- Syafri, E., Jamaluddin, Sari, N. H., Mahardika, M., Amanda, P., & Ilyas, R. A. (2022). Isolation and characterization of cellulose nanofibers from *Agave gigantea* by chemical-mechanical treatment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 200, 25-33. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.12.111>
- Tamo, A. K., Doench, I., Deffo, G., Jiokeng, S. L. Z., Doungmo, G., Ghislain Fotsop, C., Temgoua, R. C. T., Montebault, A., Serghei, A., Njanja, E., Tonle, I. K., & Osorio-Madrado, A. (2025). Lignocellulosic biomass and its main structural polymers as sustainable materials for (bio)sensing applications. *Journal of Materials Chemistry A*, 13(30), 24185-24253. <https://doi.org/10.1039/D5TA02900G>
- Tippmann, S., Anfelt, J., David, F., Rand, J. M., Siewers, V., Uhlén, M., Nielsen, J., & Hudson, E. P. (2017). Affibody scaffolds improve sesquiterpene production in *Saccharomyces cerevisiae*. En *ACS Synthetic Biology*, 6(1), 19-28. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.6b00109>
- Valenzuela-Cobos, J. D., Pérez-Martínez, S., Fiallos-Cárdenas, M., & Guevara-Viejó, F. (2024). Data mining for the characterization of a paper prototype obtained with bacterial cellulose derived from banana and pineapple by-products. *Applied Sciences*, 14(23), 11426. <https://doi.org/10.3390/app142311426>
- Viri, I. (2025, 8 de agosto). *Standard methods for the examination of water and wastewater, 24rd edition (2022)*. Standardlab. <https://www.standardlab.com>.

ec/post/standard-methods-for-the-examination-of-water-and-wastewater-24rd-edition-2022

- Wang, S.-S., Han, Y.-H., Ye, Y.-X., Shi, X.-X., Xiang, P., Chen, D.-L., & Li, M. (2017). Physicochemical characterization of high-quality bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter* sp. Strain W1 and identification of the associated genes in bacterial cellulose production. *RSC Advances* (71), 45145-45155. <https://doi.org/10.1039/c7ra08391b>
- Xu, L., Wang, Y.-Y., Huang, J., Chen, C.-Y., Wang, Z.-X., & Xie, H. (2020). Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*, 10(20), 8996-9031. <https://doi.org/10.7150/thno.45413>
- Zahan, K. A., Pa'e, N., & Muhamad, I. I. (2015). Monitoring the effect of pH on bacterial cellulose production and *Acetobacter xylinum* 0416 growth in a rotary discs reactor. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 40(7), 1881-1885. <https://doi.org/10.1007/s13369-015-1712-z>
- Zaini, H. M., Saallah, S., Roslan, J., Sulaiman, N. S., Munsu, E., Wahab, N. A., & Pindi, W. (2023). Banana biomass waste: A prospective nanocellulose source and its potential application in food industry—A review. *Heliyon*, 9(8), e18734. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e18734>
- Zou, D., & Fan, Q. (2022). Present situation of globe banana production and trade and prospect for banana industry. *Guangdong Agricultural Sciences*, 49(7), 131-140. <https://doi.org/10.16768/j.issn.1004-874X.2022.07.017>