



## **ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL**

### **FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA**

#### **"REVALORIZACIÓN DE LOS RESIDUOS DEL BANANO PARA LA OBTENCIÓN DE NANOCELULOSA BACTERIAL: DESARROLLO DE EMPAQUES PARA USOS AGROINDUSTRIAL Y SU ANÁLISIS DE CICLO DE VIDA"**

Trabajo de titulación previo a la obtención del Título de Doctor en Biociencias Aplicadas  
Mención en Biotecnología

Presentado por:

MANUEL ALEJANDRO FIALLOS CÁRDENAS

Guayaquil - Ecuador

(2024)

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar, deseo expresar mi más profunda gratitud a Dios, fuente de toda sabiduría y fortaleza, por concederme la inteligencia y el discernimiento necesarios para transitar este desafiante camino. Agradezco infinitamente por haber colocado en mi vida a personas extraordinarias, cuyo apoyo y guía han sido fundamentales para la culminación de esta etapa tan significativa.

Quiero expresar mi más profundo y especial agradecimiento a mi tutor, el Dr. Ángel Diego Ramírez Mosquera. Su vasto conocimiento y constante dedicación durante mi formación doctoral han dejado una huella imborrable en mi desarrollo como investigador y docente. Su orientación, siempre guiada por su extensa experiencia, no solo ha sido un pilar fundamental en mi trayectoria académica, sino también una fuente constante de inspiración para continuar avanzando en mi carrera.

Asimismo, extiendo mi sincero agradecimiento a mi co-tutor, el Dr. Simón Pérez Martínez. Su invaluable guía y apoyo han sido cruciales en mi crecimiento intelectual. Las enseñanzas que he recibido de él, tanto en el ámbito personal como profesional, han enriquecido profundamente mi formación, aportando nuevas perspectivas y conocimientos que han sido vitales para la culminación de este trabajo.

Quisiera también expresar mi gratitud a la Corporación Ecuatoriana para el Desarrollo de la Investigación y la Academia (CEDIA) por su generoso apoyo financiero, a través de su programa CEPRA XV-2021-02, que hizo posible la realización de estos trabajos de investigación, desarrollo e innovación. En particular, agradezco el respaldo brindado al estudio del potencial bioeconómico del jarabe de glucosa obtenido mediante hidrólisis enzimática de raquis y hoja de banano, un proyecto que representa un paso significativo hacia una bioeconomía circular en Ecuador.

De igual manera, expreso mi agradecimiento a cada uno de los miembros del tribunal. Su tiempo, dedicación y las valiosas observaciones que han compartido han sido determinantes para la culminación de esta tesis. Sus contribuciones han elevado significativamente la calidad de este trabajo, y por ello, les estoy profundamente agradecido. Sus aportes, junto con el incondicional respaldo de mis seres queridos, han sido los pilares sobre los cuales he podido construir y completar este proyecto.

Finalmente, quiero dedicar un agradecimiento especial a mi familia, amigos y colegas. Su apoyo incondicional ha sido un aliento constante a lo largo de este recorrido, brindándome la fuerza y la motivación necesarias para superar cada desafío. A todos ustedes, les ofrezco mi más sincero y profundo agradecimiento.

## **DEDICATORIA**

A mi madre, Edith Cárdenas

## **TRIBUNAL DE GRADUACIÓN**

-----  
María Jiménez PhD.  
DECANO O DELEGADO

-----  
Andrés Rigail PhD.  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL ESPOL

-----  
César Moreira PhD.  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL ESPOL

-----  
Sócrates Palacios PhD.  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL ESPOL

-----  
Juan Valenzuela PhD.  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL EXTERNO

-----  
Hugo Romero PhD.  
MIEMBRO DEL TRIBUNAL EXTERNO

-----  
Ángel Diego Ramírez PhD.  
DIRECTOR DE PROYECTO DE TITULACIÓN

-----  
Simón Pérez-Martínez PhD.  
CO-DIRECTOR DE PROYECTO DE TITULACIÓN

## **DECLARACIÓN EXPRESA**

La responsabilidad del contenido de este trabajo de titulación me corresponde exclusivamente;  
y el patrimonio intelectual de la misma a la Escuela Superior Politécnica del Litoral

Manuel Alejandro Fiallos Cárdenas

## GLOSARIO

<b>Análisis bibliométrico</b>	Estudio cuantitativo de documentos y publicaciones para evaluar la producción científica y sus impactos.
<b>Análisis de ciclo de vida</b>	Evaluación del impacto ambiental de un producto desde su producción hasta su disposición final.
<b>Análisis metagenómico</b>	Estudio de material genético recuperado directamente de muestras ambientales para comprender comunidades microbianas.
<b>Análisis tecnoeconómico</b>	Evaluación de viabilidad económica y técnica de un proceso o tecnología.
<b>Banano de rechazo</b>	Fruta de banano que no cumple con los estándares de calidad para el mercado.
<b>Biomasa</b>	Materia orgánica utilizada como fuente de energía renovable.
<b>Biomasa residual lignocelulósica</b>	Residuos vegetales ricos en celulosa, hemicelulosa y lignina, usados en la producción de bioenergía.
<b>Bioplástico</b>	Un bioplástico es un material plástico producido a partir de fuentes biológicas renovables, como el almidón de maíz o la cáscara de plátano. Bajo condiciones adecuadas, es biodegradable, lo que lo convierte en una opción más sostenible en comparación con los plásticos derivados del petróleo. Sus aplicaciones incluyen envases, utensilios desechables y productos duraderos.
<b>Biopolímeros</b>	Polímeros producidos por organismos vivos, biodegradables y sostenibles.
<b>Biorrefinería</b>	Concepto estratégico que promueve la utilización integral y sostenible de la biomasa. Así mismo, es una realidad física representada por las instalaciones industriales dedicadas a la transformación de la biomasa en biocombustibles, productos químicos y/o energía.
<b>Biotecnología blanca</b>	Rama de la biotecnología enfocada en procesos industriales sostenibles, utilizando microorganismos y/o enzimas para producir productos químicos, biocombustibles y materiales.
<b>Celulosa</b>	Polisacárido estructural principal de las paredes celulares vegetales.
<b>Economía circular</b>	Sistema económico que busca reducir residuos mediante la reutilización, reciclaje y renovación de materiales y productos.
<b>Hidrólisis química</b>	La hidrólisis química involucra la descomposición de biomasa lignocelulósica mediante reacciones específicas, como ácidos, bases y óxidos
<b>Hidrólisis biológica</b>	Proceso mediante el cual la biomasa lignocelulósica se descompone en sus componentes básicos, como azúcares simples, bajo la acción de enzimas biológicas.
<b>Límites del sistema</b>	Fronteras definidas que determinan qué procesos y flujos se incluyen en un análisis de ciclo de vida.
<b>Metabolitos</b>	Productos intermedios y finales del metabolismo en organismos vivos.



<b>Nanocelulosa</b>	Material derivado de la celulosa con dimensiones nanométricas, conocido por su alta resistencia y ligereza.
<b>Nervadura de banano</b>	Estructura vascular principal de la hoja de banano.
<b>Raquis de banano</b>	Eje central del racimo de banano del cual se desprenden los frutos.
<b>Tasa Interna de Retorno</b>	Es el porcentaje que indica el rendimiento generado por una inversión en un periodo específico. Representa la tasa de crecimiento a la cual el valor actual neto de una inversión se iguala a cero, lo que determina su viabilidad y rentabilidad.
<b>Unidad funcional</b>	Medida cuantitativa de la función que un sistema de producto proporciona, usada como base de comparación en análisis de ciclo de vida.
<b>Valor Actual Neto</b>	Es la diferencia entre el valor presente de los flujos de efectivo entrantes y salientes de una inversión. Sirve para evaluar si un proyecto es rentable al comparar los ingresos esperados con los costos, descontados al valor presente en función de una tasa de interés.
<b>Valor Presente Neto</b>	Representa la diferencia entre el valor presente de los flujos de efectivo futuros de una inversión y el costo inicial de dicha inversión. Se utiliza como una medida de la rentabilidad de un proyecto o inversión, considerando la relevancia del valor del dinero en el tiempo.

## ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I FUNDAMENTO TEÓRICO .....	13
1.1. Introducción .....	13
1.2. Sistema de producción del banano y su biomasa residual.....	17
1.3. Características químicas de la biomasa residual del banano .....	18
1.4. Transformación de la biomasa residual del banano .....	20
1.5. Análisis tecnoeconómico de los bioproductos derivados de residuos de banano .....	21
1.6. Análisis del ciclo de vida ambiental de los sistemas agrícolas del banano .....	23
1.7. Barreras a la transición hacia una bioeconomía más circular en la cadena de valor del banano	25
1.8. Perspectivas para una bioeconomía circular basada en la biomasa residual del banano	26
1.9. Límites y posibilidades en la valoración de biomasa residual del banano .....	29
1.10. Celulosa vegetal y bacteriana .....	30
1.11. Métodos de producción de celulosa.....	30
1.12. Producción de nanocelulosa bacteriana a través de la fermentación de té de kombucha .....	33
CAPÍTULO II INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....	34
2.1. Introducción .....	34
2.1.1. Aplicación de la nanocelulosa bacterial y almidón termoplástico como reemplazo parcial en material de empaque plástico .....	36
2.1.2. Optimización estadística para el proceso de obtención de nanocelulosa bacterial y biopelícula.....	38
2.1.3. Análisis de ciclo de vida para la producción de nanocelulosa bacteriana y biopelículas a base de almidón termoplástico .....	40
2.1.4. Análisis tecnoeconómico .....	41
2.2. Objetivo general.....	43
2.3. Objetivo específico 1 .....	43
2.4. Objetivo específico 2 .....	43
2.5. Objetivo específico 3 .....	43
2.6. Objetivo específico 4 .....	43
CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS.....	44
3.1. Determinación del medio de cultivo óptimo de la <i>K. xylinus</i> utilizando como fuente de carbono los residuos lignocelulósicos del banano, raquis y hoja, para la obtención de la nanocelulosa bacterial. ....	44
3.1.1. Recolección y preparación de muestras vegetales .....	45
3.1.2. Análisis de identificación mediante métodos bioquímicos y secuenciación de nueva generación (NGS).....	46
3.1.3. Caracterización Físicoquímica y Evaluación de la Capacidad Antioxidante de Infusiones de Té Verde, Jugo de Hoja y Raquis de Banano, e Inóculo Madre .....	47
3.1.4. Evaluación del impacto de la ozonización del jugo de raquis de banano en la producción de nanocelulosa bacteriana .....	48

3.1.5.	Optimización de la producción de NCB utilizando el método de Box-Behnken a escala 0.1 litros.....	49
3.1.6.	Determinación de los parámetros fisicoquímicos y del rendimiento en la producción de NCB en un medio optimizado a escala 10 l.....	50
3.1.7.	Caracterización estructural (microscopía electrónica de barrido, SEM) y fisicoquímica (espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, FTIR; análisis termogravimétrico, TGA; y difracción de rayos X, XRD) de la NCB .....	50
3.2.	Empleo de la nanocelulosa bacterial como reemplazo parcial de material de empaque.	52
3.2.1.	Materiales y reactivos .....	52
3.2.2.	Análisis proximal de la cáscara de banano.....	52
3.2.3.	Caracterización del almidón extraído de la cáscara de banano.....	55
3.2.4.	Optimización mediante diseño de mezcla simplex centroide para la producción de biopolímeros modificados con NCB.....	58
3.2.5.	Evaluación de las propiedades fisicoquímicas del bioplástico optimizado .....	60
3.3.	Cuantificación del desempeño ambiental de la nanocelulosa bacterial como reemplazo parcial de material de empaque a lo largo de su ciclo de vida. ....	60
3.4.	Análisis del uso de la nanocelulosa bacterial como soporte para la implementación de la economía circular en la cadena de valor del banano en un contexto de bioeconomía circular .....	64
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....		68
4.1.	Determinación del medio de cultivo óptimo de la <i>K. xylinus</i> utilizando como fuente de carbono los residuos lignocelulósicos del banano, raquis y hoja, para la obtención de la nanocelulosa bacterial. ....	68
4.1.1.	Identificación mediante métodos bioquímicos y secuenciación de nueva generación (NGS).....	68
4.1.2.	Evaluación del impacto de la ozonización del jugo de raquis de banano en la producción de nanocelulosa bacterial .....	71
4.1.3.	Caracterización fisicoquímica del jugo de nervadura de banano, el inóculo madre, la infusión de té verde y el jugo de raquis de banano .....	80
4.1.4.	Diseño experimental utilizando el método de Box-Behnken .....	83
4.1.5.	Determinación de los parámetros fisicoquímicos y del rendimiento en la producción de nanocelulosa bacterial en el medio optimizado.....	89
4.1.6.	Caracterización fisicoquímica de la nanocelulosa bacterial mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), análisis termogravimétrico (TGA) y difracción de rayos X (XRD) .....	90
4.2.	Empleo de la nanocelulosa bacterial como reemplazo parcial de material de empaque.	95
4.2.1.	Análisis proximal de la cáscara de banano.....	95
4.2.2.	Caracterización del almidón extraído de la cáscara de banano y comerciales .	96
4.2.3.	Diseño de mezclas para la obtención de películas a base de PEBD, NCB y ACB .....	97
4.2.4.	Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de la biopelícula optimizado ...	101
4.3.	Cuantificación del desempeño ambiental de la nanocelulosa bacterial como reemplazo	

parcial de material de empaque a lo largo de su ciclo de vida.....	104
4.4. Análisis del uso de nanocelulosa bacterial como soporte para la implementación de la economía circular en la cadena de valor del banano.....	107
CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	113
5.1. Determinación del medio de cultivo óptimo de la <i>K. xylinus</i> utilizando como fuente de carbono los residuos lignocelulósicos del banano, raquis y hoja, para la obtención de la nanocelulosa bacterial.....	113
5.2. Empleo de la nanocelulosa bacterial como reemplazo parcial de material de empaque.....	114
5.3. Cuantificación del desempeño ambiental de la nanocelulosa bacterial como reemplazo parcial de material de empaque a lo largo de su ciclo de vida.....	115
5.4. Análisis del uso de nanocelulosa bacterial como soporte para la implementación de la economía circular en la cadena de valor del banano.....	115
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	117
NOTA SOBRE PUBLICACIONES.....	163
Apéndice A: Relación de Abundancia Unificada.....	164
Apéndice B: Cinética de características fisicoquímicas el jugo de raquis de banano.....	164
Apéndice C: Código Rstudio para determinar correlación entre las variables analizadas en el jugo de raquis de banano ozonizado.....	166
Apéndice D: Código en Rstudio para optimización de medio de fermentación mediante el diseño Box – Behnken.....	167
Apéndice E: Código en RStudio para el diseño simplex-centroide en la producción de biopolímeros basados en almidón de cáscara de banano (ACB), nanocelulosa bacteriana (NCB) y glicerina.....	168
APÉNDICE F: Tabla suplementaria para análisis de ciclo de vida en la producción de bioplástico a partir de NCB-PEBD-ACB.....	171

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición química media de las partes aéreas de la planta de banano expresada como media en % de peso seco según varios autores. ....	18
<b>Tabla 2.</b> Características de los estudios de análisis tecnoeconómico (ATE) en la valorización de biomasa residual de la cadena de valor del banano. ....	22
<b>Tabla 3.</b> Resultados de la huella de carbono del banano en la literatura.....	24
<b>Tabla 4.</b> Actores y barreras para la transición hacia una bioeconomía circular.....	25
<b>Tabla 5.</b> Composición química de la hoja y raquis de banano.....	34
<b>Tabla 6.</b> Estudios sobre análisis de ciclo de vida en la producción de nanocelulosa bacteriana.....	41
<b>Tabla 7.</b> Variables y sus niveles para el diseño simplex centroide (DSC).....	59
<b>Tabla 8</b> Ensayos de Caracterización bioquímica para la identificación de <i>K. xylinus</i> .....	71
<b>Tabla 9.</b> Caracterización fisicoquímica de las materias primas.....	80
<b>Tabla 10.</b> Variables y sus niveles para el diseño Box-Benhken.....	83
<b>Tabla 11.</b> Resultados diseño Box-Behnken para la optimización del rendimiento de nanocelulosa bacteriana.....	83
<b>Tabla 12.</b> Análisis de regresión para la producción de nanocelulosa bacteriana.....	85
<b>Tabla 13</b> Composición proximal de la harina de cáscara de banano orgánico de rechazo (promedio de n=X).....	95
<b>Tabla 14.</b> Diseño de Mezcla Simplex Centroide con tres componentes para la obtención de biopelículas.....	98
<b>Tabla 15.</b> Análisis de regresión para la producción de películas basadas en NCB, ACB, y PEBD.....	98
<b>Tabla 16.</b> Datos experimentales obtenido en este estudio para calcular la producción de bioplástico (biorrefinería). ....	107
<b>Tabla 17.</b> Costos de Materias Primas y Servicios Asociados para la Producción de Bioplásticos a Base de Nanocelulosa Bacteriana*.....	107
<b>Tabla 18.</b> Descripción del equipo y precios unitarios que contribuyen al costo de capital.....	108
<b>Tabla 19.</b> Gastos de capital del proceso de producción de biorrefinería.....	109
<b>Tabla 20.</b> Análisis de rentabilidad del proceso de producción de bioplástico a base de NCB. ....	111
<b>Tabla 21.</b> Análisis de flujo de caja (en millones de US\$) para el proceso de producción de bioplástico a base de NCB. ....	112

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Contribución media de la biomasa aérea al peso fresco total de una planta de banano. Adaptado de Ortiz-Ulloa et al., (2021).....	18
<b>Figura 2.</b> Diagrama de flujo de bимasa lignocelulósica residual para una bioeconomía circular basada en la cadena de valor actual del banano de exportación (rectángulo superior izquierdo color olivo) .....	28
<b>Figura 3.</b> Diagrama esquemático de la vía de síntesis de celulosa bacteriana en el género <i>Komagataeibacter</i> donde se muestra los principales metabolitos y enzimas involucrados en el proceso.....	32
<b>Figura 4.</b> Diagrama de proceso del objetivo específico 1.....	44
<b>Figura 5.</b> Diagrama de proceso para objetivo específico 2. ....	52
<b>Figura 6.</b> Escenario B. Biorrefinería para la producción de nanocelulosa bacteriana, almidón de cáscara de banano, bebida fermentada análoga al té de kombucha, sin aprovechamiento del bagazo residual.....	62
<b>Figura 7.</b> Escenario C. Biorrefinería para la producción de nanocelulosa bacteriana, almidón de cáscara de banano, bebida fermentada análoga al té de kombucha, con aprovechamiento del bagazo residual.....	63
<b>Figura 8.</b> Abundancia unificada de especies de bacterias y hongos a partir del consorcio microbiano (SCOBY) usado como inóculo para la obtención de nanocelulosa bacteriana. ....	68
<b>Figura 9.</b> Árbol filogenético de las especies.....	70
<b>Figura 10.</b> Dinámica del pH en medios de cultivo con diferentes concentraciones de jugo de raquis de banano (a, 25%; b, 50%, y c, 75%) y tiempo de ozonización durante 7 d de fermentación. Variación del pH del medio con jugo de raquis de banano a distintas concentraciones: (a) 25%, (b) 50%, y (c) 75%. Tiempo de ozonización 0, 5, 20, y 30 minutos. ....	73
<b>Figura 11.</b> Variación de los °Brix del medio con jugo de raquis de banano a distintas concentraciones: (a, 25%, b, 50%, y c, 75%). ....	75
<b>Figura 12.</b> Variación de la turbidez del medio con jugo de raquis de banano a distintas concentraciones: (a, 25%, b, 50%, y c, 75%). ....	76
<b>Figura 13.</b> Variación del rendimiento de producción de nanocelulosa bacteriana ( $g\ l^{-1}$ ) a partir de jugo de raquis de banano a distintas concentraciones: (a, 25%, b, 50%, y c, 75%). ....	78
<b>Figura 14.</b> Correlación entre las variables. • indica $p < 0.10$ . * indica $p < .05$ . ** indica $p < 0,01$ . *** indica $p < 0,001$ . ....	79
<b>Figura 15.</b> Curvas de superficie de respuesta para el rendimiento de NCB (eje y) en función de las variables de proceso composición del sustrato y tiempo de fermentación. ....	86
<b>Figura 16.</b> Efectos principales de los términos del modelo.....	87
<b>Figura 17.</b> Cinética de la producción de nanocelulosa bacteriana: variaciones de pH y turbidez en el medio de cultivo en un biorreactor de 10 litros, cultivo en lote a 30 °C y 1 atmósfera. ....	89
<b>Figura 18.</b> Imágenes SEM de las membranas nanocelulosa bacteriana.....	91
<b>Figura 19.</b> Caracterización de nanocelulosa bacteriana: espectros de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier.....	92
<b>Figura 20.</b> (a) Curva de análisis termogravimétrico y (b) curva termogravimétrica derivada de la NCB obtenida en el medio de cultivo control (HS) y el medio alternativo optimizado Box-Behnken. ....	94
<b>Figura 21.</b> Difractograma de rayos X de nanocelulosa bacteriana en el medio optimizado a partir del diseño Box-Behnken (línea negra), y nanocelulosa bacteriana en el medio HS-NCB (línea roja). ....	95
<b>Figura 22.</b> Características fisicoquímicas del almidón de cáscara de banano orgánico de rechazo obtenido y distintos almidones comerciales de otras fuentes (maíz y yuca). Contenidos de amilopectina (%) (a), amilosa (%) (b), cenizas (%) (c), y humedad (%) (d), pérdida por secado (%) (e), y pH (f). ....	97
<b>Figura 23.</b> Gráfica de contorno de mezcla que muestra el efecto de las variables en la resistencia a la tracción de la nueva mezcla de película plástica.....	99
<b>Figura 24.</b> Gráfica de resultados para diseño Simplex Centroides a) Efecto, b) Análisis de regresión. ....	100

<b>Figura 25.</b> Espectros FTIR del polietileno de baja densidad usado como estándar de la industria (rojo) y de la biopelícula desarrollada en este trabajo (azul).....	102
<b>Figura 26.</b> Termograma. En rojo TGA de Polietileno de baja densidad y en azul TGA del bioplástico.....	103
<b>Figura 27.</b> SEM a 100 $\mu\text{m}$ . (a) polietileno de baja densidad, (b) película plástica optimizada. ....	104
<b>Figura 29.</b> Potencial de calentamiento global para la producción de 1 kg de película plástica en diferentes escenarios.....	106

## **ABREVIATURAS**

<b>ACV</b>	Análisis de ciclo de vida
<b>ANOVA</b>	Análisis de varianza
<b>ATE</b>	Análisis tecnoeconómico
<b>BRL</b>	Biomasa residual lignocelulósica
<b>BAA</b>	Bacterias del ácido acético
<b>BAL</b>	Bacterias del ácido láctico
<b>CB</b>	Celulosa bacteriana
<b>CV</b>	Celulosa vegetal
<b>DBB</b>	Diseño Box – Behnken
<b>DCC</b>	Diseño compuesto central
<b>DSC</b>	Diseño simplex centroide
<b>EC</b>	Economía circular
<b>FB</b>	Fibra de banano
<b>FTIR</b>	Espectroscopía de Infrarrojo por Transformada de Fourier (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)
<b>GEI</b>	Gases de efecto invernadero
<b>GPS</b>	Sistema de Posicionamiento Global (The Global Positioning System)
<b>HC</b>	Huella de carbono
<b>HS</b>	Medio HS (Hestrin-Schramm)
<b>JHB</b>	Jugo de Hoja de Banano
<b>JRB</b>	Jugo de Raquis de Banano
<b>MSR</b>	Metodología de superficie de respuesta
<b>NCB</b>	Nanocelulosa bacteriana
<b>NFC</b>	Nanofibras de celulosa
<b>NCC</b>	Nanocelulosa cristalina
<b>ODS</b>	Objetivos de desarrollo sostenible



<b>PEBD</b>	Polietileno de baja densidad
<b>SCOPY</b>	Cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (Symbiotic Culture of Bacteria & Yeast)
<b>SEM</b>	Microscopía Electrónica de Barrido (Scanning Electron Microscopy)
<b>TGA</b>	Análisis Termogravimétrico (Thermogravimetric Analysis)
<b>TIR</b>	Tasa interna de retorno
<b>TK</b>	Té de kombucha
<b>TPS</b>	Almidón termoplástico (Thermoplastic Starch)
<b>U.F.</b>	Unidad funcional
<b>VAN</b>	Valor actual neto
<b>VPN</b>	Valor Presente Neto
<b>XRD</b>	Difracción de Rayos X (X-ray Diffraction)

## RESUMEN

El interés en la nanocelulosa bacteriana (NCB) ha crecido debido a su alta pureza, excelentes propiedades mecánicas y compatibilidad biológica. Sin embargo, la producción industrial de NCB enfrenta desafíos relacionados con el elevado costo de las fuentes de carbono y nitrógeno para la fermentación. En este contexto, las hojas y raquis de banano desechadas durante la cosecha presentan una oportunidad valiosa como fuentes de nutrientes. Este estudio se enfoca en la revalorización de los residuos lignocelulósicos del banano para la obtención de NCB y el desarrollo de empaques para uso agroindustrial, además de realizar un análisis de ciclo de vida (ACV). Para caracterizar las propiedades estructurales, térmicas y morfológicas de la NCB, se emplearon técnicas como espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), microscopía electrónica de barrido (SEM), difracción de rayos X (XRD) y análisis termogravimétrico (TGA). La optimización del proceso se llevó a cabo mediante el diseño Box-Benhken, obteniendo un modelo con un  $R^2$  ajustado de 99,78%, y un rendimiento de 8,82 g/L de NCB en peso seco al día 14. Adicionalmente, se utilizó almidón de cáscara de banano y NCB para sustituir parcialmente el polietileno de baja densidad (PEBD), empleando el diseño Simplex-Centroide. El modelo optimizado mostró un  $R^2$  ajustado de 99,89%. La caracterización de los grupos funcionales mediante FTIR indicó que la película de base biológica es comparable a la película de PEBD. En particular, se encontró que el potencial de calentamiento global del bioplástico (2,06 kg CO<sub>2</sub>-eq) es inferior al del PEBD (2,67 kg CO<sub>2</sub>-eq). El análisis financiero revela que, con una inversión inicial total de 3.016.633 dólares, se proyecta generar ingresos anuales de 1.092.025,97 dólares. Esta proyección se basa en la producción y venta de biopelículas de NCB, una bebida análoga al té de kombucha y pellets de fibra. Los ingresos se estiman bajo la premisa de venta completa de los productos, con un margen bruto del 58,25% y un retorno de la inversión del 12,50%. La tasa interna de retorno (TIR) después de impuestos es del 16,93%, y el tiempo de amortización es de 4,75 años, indicando una recuperación rápida de la inversión inicial. La producción de bioplástico a partir de NCB tiene un costo de 0,97 \$/kg, con un precio de venta de 1,20 \$/kg, logrando una utilidad del 24%, comparable al costo del PEBD. La estrategia de utilizar una biorrefinería maximiza las ventajas ambientales y económicas del proceso biotecnológico. Este enfoque resalta el uso de residuos del banano como una solución circular para la producción de NCB y plásticos de base biológica, fomentando la sostenibilidad en el cultivo del banano y contribuyendo a los Objetivos de Desarrollo Sostenible.

**Palabras claves:** Banano, biorrefinería, sostenibilidad, análisis de ciclo de vida, nanocelulosa bacteriana, bioplástico, residuos lignocelulósicos.

## ABSTRACT

Interest in bacterial nanocellulose (NCB) has grown due to its high purity, excellent mechanical properties, and biological compatibility. However, the industrial production of NCB faces challenges related to the high cost of carbon and nitrogen sources for fermentation. In this context, banana leaves and rachis discarded during harvest present a valuable opportunity as nutrient sources. This study focuses on the valorization of banana lignocellulosic waste for NCB production and the development of packaging for agro-industrial use, as well as conducting a life cycle assessment (LCA). To characterize the structural, thermal, and morphological properties of NCB, techniques such as Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction (XRD), and thermogravimetric analysis (TGA) were employed. The process was optimized using the Box-Behnken design, achieving a model with an adjusted  $R^2$  of 99.78% and a yield of 8.82 g/L of dry-weight NCB by day 14. Additionally, banana peel starch and NCB were used to partially replace low-density polyethylene (LDPE) using the Simplex-Centroid design. The optimized model showed an adjusted  $R^2$  of 99.89%. FTIR characterization indicated that the bio-based film is comparable to the LDPE film. Specifically, it was found that the global warming potential (GWP) of the bioplastic (2.06 kg CO<sub>2</sub>-eq) is lower than that of LDPE (2.67 kg CO<sub>2</sub>-eq). The financial analysis reveals that, with a total initial investment of \$3,016,633, annual revenues are projected to reach \$1,092,025.97. This projection is based on the production and sale of NCB biopellets, a kombucha-like beverage, and fiber pellets. Revenues are estimated under the assumption of full product sales, with a gross margin of 58.25% and a return on investment of 12.50%. The internal rate of return (IRR) after taxes is 16.93%, and the payback period is 4.75 years, indicating a rapid recovery of the initial investment. The production of bioplastic from NCB is optimized at a cost of \$0.97/kg, with a selling price of \$1.20/kg, achieving a 24% profit margin, comparable to the cost of LDPE. The strategy of using a multiproduct biorefinery maximizes the environmental and economic advantages of the biotechnological process. This approach highlights the use of banana waste as a circular solution to produce NCB and bio-based plastics, promoting sustainability in banana cultivation and contributing to the Sustainable Development Goals.

**Keywords:** Banana, multiproduct biorefinery, sustainability, life cycle analysis, bacterial nanocellulose, bioplastic, lignocellulosic residues.

## **CAPÍTULO I FUNDAMENTO TEÓRICO**

Este capítulo I se basa en el artículo titulado “Prospectives for the development of a circular bioeconomy around the banana value chain” presentado como requisito de este programa doctoral y publicado en la revista Sustainable Production and Consumption el 7 de enero de 2022.

### **1.1. Introducción**

El banano y el plátano se encuentran entre los diez principales cultivos en cuanto a producción a nivel mundial (Elbehri, 2015; FAO, 2019, 2021). En 2022, la producción mundial de banano y la superficie total plantada fueron de 135,1 Mt y 5,9 Mha, respectivamente (FAOSTAT, 2022). La producción mundial de banano y la superficie cosechada habían aumentado entre 2000 y 2017 un 3,2% y un 4,6%, respectivamente (Evans et al., 2020; FAO, 2019; FAOSTAT, 2022). Este crecimiento de la producción mundial ha generado ingresos y empleo para millones de hogares. Los principales países productores son India (30,53 Mt), China (11,77 Mt), Indonesia (9,25 Mt), Brasil (6,85 Mt) y Ecuador (6,08 Mt) (FAOSTAT, 2022). Las exportaciones de banano contribuyen al Producto Interno Bruto (PIB) general, como es el caso de Ecuador (1,91%) (Corporación Financiera Nacional, 2020), Costa Rica (2%) (CORBANA, 2020), Guatemala (1,05%) (BANGUAT, 2016), pero pueden llegar al 35% del PIB agrícola como el caso de Ecuador (Agrocalidad, 2023). Sin embargo, la producción agrícola causa impactos negativos en el suelo, el aire y los recursos hídricos (Elbehri, A., 2015; Spiertz, 2009). Se estima que la agricultura es responsable del 21% de las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) (Svanes & Aronsson, 2013).

Actualmente, el Cambio Climático es la principal amenaza para la sostenibilidad (Brando et al., 2013; Okoko et al., 2017). El cambio climático es consecuencia de la emisión de GEI por actividades antropogénicas (Clay & Zimmerer, 2020; Solomon et al., 2015; Spiertz, 2009). Se estima que estas emisiones provienen principalmente de las prácticas de labranza, el uso de combustibles fósiles, la producción de fertilizantes, los suelos agrícolas fertilizados, el estiércol de los animales de granja y la quema de residuos de cultivos (Jain et al., 2014; Kaushal & Prashar, 2021; Praveen & Sharma, 2019). Es probable que el cambio climático afecte negativamente a la agricultura al aumentar la frecuencia de los fenómenos meteorológicos extremos, como temperaturas récord que pueden alcanzar hasta 50°C y niveles de humedad extremos que pueden provocar inundaciones con acumulaciones de hasta 300 mm en pocos días o sequías prolongadas. Estos cambios pueden modificar los patrones de producción y

comercio a nivel mundial (Calzadilla et al., 2013; Manuel et al., 2021; B. Sultan & Gaetani, 2016; Wang et al., 2021). De acuerdo con Varma & Bebbber, (2019), el cambio climático no ha afectado la productividad mundial del banano; sin embargo, podría ser diferente en el futuro, disminuyendo la producción de este alimento debido a los cambios extremos en el clima. Además de un aumento en la incidencia de plagas y enfermedades en el cultivo de banano (Bebber, 2019; Mata et al., 2020). Estos cambios afectarían la diversidad y seguridad alimentaria, así como la economía de los principales países productores (Bebber, 2019; Elbehri, A., 2015). Además, el suministro de bananos a los países no productores es un factor esencial que contribuye a la diversidad de la dieta que debe garantizarse.

Los gobiernos de todo el mundo han estado trabajando en instrumentos políticos y económicos para abordar los problemas ambientales (Duque-Acevedo et al., 2020; Egea et al., 2018). Desde 1992, a partir de la Declaración de Río sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo, se han estructurado modelos basados en el desarrollo sostenible, integrando factores sociales, económicos y ambientales. En 2015 se aprobó la nueva Agenda para el Desarrollo Sostenible 2030 de la Organización de Naciones Unidas (ONU), que establece 17 objetivos de desarrollo sostenible (ODS) (Bedard-Vallee et al., 2023; ONU, 2022). Sin embargo, según el informe de la ONU de 2019, las medidas adoptadas hasta la fecha no han avanzado satisfactoriamente en la consecución de estos ODS. La Unión Europea ha respondido a este desafío con la Estrategia Europa 2020, buscando garantizar un crecimiento inteligente, sostenible e integrador (European Commission, 2012, 2014). Esta estrategia sentó las bases para la Economía Circular (EC) y la Bioeconomía (European Commission, 2014). Además, la Unión Europea ha adoptado la Ley Europea del Clima como parte del Pacto Verde Europeo, estableciendo metas vinculantes para reducir las emisiones de gases de efecto invernadero en al menos un 55% para 2030, con el objetivo de lograr la neutralidad climática en 2050. Esta legislación también fomenta un mayor sumidero neto de carbono (Consejo de la Unión Europea, 2022).

La EC incluye todo tipo de procesos en los que el valor de los productos, materiales y recursos se mantiene en la economía durante el mayor tiempo posible, y la generación de residuos se reduce al mínimo (Anttonen et al., 2018; European Commission, 2012). La bioeconomía puede definirse como la "producción de recursos biológicos renovables y la conversión de estos recursos y flujos de residuos en productos de valor añadido, como alimentos, piensos, productos de base biológica y bioenergía" (Carus & Dammer, 2018; European Commission, 2012). La "Bioeconomía Circular" se define como la intersección de estos dos modelos económicos (Carus & Dammer, 2018). Según Duque-Acevedo et al., (2020), la EC y la bioeconomía contribuyen significativamente a la consecución de cuatro ODS. En

concreto, el ODS 2: "Poner fin al hambre, lograr la seguridad alimentaria y mejorar la nutrición, y promover la agricultura sostenible"; ODS 11: "Lograr que las ciudades y los asentamientos humanos sean inclusivos, seguros, resilientes y sostenibles"; el ODS 12: "Garantizar modalidades de consumo y producción sostenibles", y el ODS 13: "Adoptar medidas urgentes para combatir el cambio climático y sus efectos".

La agricultura sostenible requiere adoptar los principios y conceptos en los que se basa la EC (de Oliveira & Oliveira, 2023; European Commission, 2014) y la bioeconomía (Angouria-Tsorochidou et al., 2021; Popp et al., 2021). Este enfoque implica el uso de residuos agrícolas como materia prima para los sistemas de producción (Angouria-Tsorochidou et al., 2021; Yeboah et al., 2022). La idea subyacente es transformar un subproducto inevitable de un sistema de producción en un recurso para un segundo sistema de producción (D'Amato et al., 2017). El uso de los residuos generados por el sector agrícola es una forma eficaz de reducir las emisiones de GEI y mejorar el rendimiento de los sistemas agrícolas (Mago et al., 2021; Thomas et al., 2021). Sin embargo, la implementación de un modelo circular en la agricultura aún está en desarrollo, y por el momento, solo existen propuestas para lograr la transición de un modelo lineal a un modelo más circular (Angouria-Tsorochidou et al., 2021; Chojnacka et al., 2020; Gawel et al., 2019). En este contexto, las biorrefinerías son un factor esencial en la transición hacia una economía circular y bioeconomía (Ubando et al., 2022). La biorrefinería permite la conversión de biomasa de un producto a múltiples productos de forma similar a como ocurre en las refinerías de petróleo, donde se utiliza una sola materia prima en equipos con alta capacidad de procesamiento para conseguir la máxima economía de escala (Ball et al., 2018; Giampietro, 2019). Las biorrefinerías representan un enfoque prometedor siempre y cuando sean sostenibles, ecoeficientes y competitivas (Acevedo-García et al., 2022; Garlapati et al., 2020).

La implementación de proyectos de biorrefinería requiere de un análisis tecnoeconómico (ATE) para estimar el costo-beneficio de producir a diferentes escalas, tecnología y escenarios (Leal Silva et al., 2022; Yeboah et al., 2022). Dado que la sostenibilidad tiene tres dimensiones, el medio ambiente, la sociedad y la prosperidad económica, es habitual evaluar de forma exhaustiva el uso de las biorrefinerías combinando la ATE con el análisis del ciclo de vida (ACV) (Duque et al., 2015; Hill et al., 2006; Shi & Guest, 2020). El ACV es una herramienta de análisis cuantitativo para describir el comportamiento medioambiental de un producto o sistema estandarizado por la norma ISO 14040 (Chaparro-Garnica et al., 2022). Además, es ampliamente aceptado por la comunidad científica porque analiza los insumos y productos de un sistema de producción, proporcionando una base objetiva para las comparaciones

(Fitzgerald et al., 2021; Guerrero & Muñoz, 2018; Kookos et al., 2019). Por lo tanto, permite analizar el comportamiento ambiental de los bioproductos obtenidos a partir de residuos agrícolas (Boschiero et al., 2016; Ginni et al., 2021).

Los residuos agrícolas pueden ser de dos tipos: (i) lignocelulósicos: aquellos cuyos componentes principales son la hemicelulosa, la celulosa y la lignina como la paja de trigo, la fibra de maíz, la paja de maíz, el raquis del banano, las hojas (S. Costa et al., 2018; Gabhane et al., 2014; Luo et al., 2017), y (ii) material no lignocelulósico o amiláceo, cuya composición principal puede ser almidón, pectinas como el fruto de rechazo o cáscara de fruto (Anastopoulos et al., 2019; Velásquez-Arredondo et al., 2010). Para que los residuos agrícolas sean considerados un recurso para las biorrefinerías, se deben considerar algunos factores, como la biodisponibilidad y la composición bioquímica (Egea et al., 2018; Thomas et al., 2021).

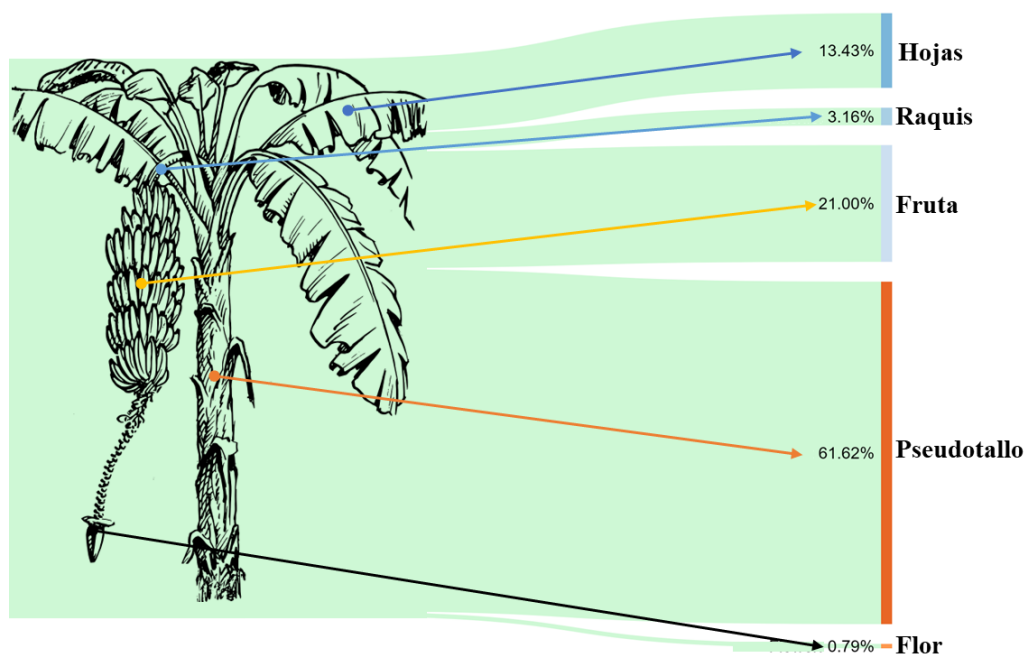
Estados Unidos, India y China son los países con más estudios sobre el uso de residuos agrícolas, principalmente de cultivos de trigo y maíz, ya que son los principales productores (Duque-Acevedo et al., 2020). Investigaciones recientes sobre la valorización de residuos agroalimentarios incluyen su uso como (i) materia prima para la producción de alimentos con valor agregado (Eriksson et al., 2021; Gómez-García et al., 2021), o (ii) fuente de carbono durante la etapa de fermentación en procesos de base biológica (Bartek et al., 2021). En este sentido, los residuos agrícolas y los desperdicios alimentarios pueden ser bioconvertidos, a través de biorrefinerías, en (i) energía como bioetanol, biocombustible y biogás (Calvin et al., 2021; Mboumboue & Njomo, 2018; Popp et al., 2021) y (ii) compuestos de interés como ácido láctico, polihidroxibutirato, nanocelulosa bacteriana (NCB), biofertilizantes, bioestimulantes y biopolímeros (Fiallos-Cárdenas et al., 2021; Gabhane et al., 2014; Naranjo et al., 2014; Teigiserova et al., 2019). La NCB, así como los otros compuestos permiten la reducción o sustitución del uso de compuestos sintéticos en los sistemas agrícolas, facilitando la transición hacia modelos circulares sostenibles (Forfora et al., 2024; Popp et al., 2021; Rashidi & Cullinane, 2019). Por otro lado, las tecnologías verdes (como las biorrefinerías, procesos de base biológica, entre otras.) permiten recuperar moléculas que agregan valor a subproductos alimentarios agroindustriales, permitiendo su reincorporación a la cadena de suministro de alimentos bajo el concepto de bioeconomía circular (Chimphango et al., 2020; Eriksson et al., 2021). En este contexto, se destaca la importancia del ACV y el ATE para la toma de decisiones informadas sobre la sostenibilidad de estos bioproductos (Bartek et al., 2021; Eriksson et al., 2021; Ginni et al., 2021; Rashidi & Cullinane, 2019; Teigiserova et al., 2019). Ambas herramientas permiten, en consecuencia, valorizar cuantitativamente residuos agrícolas y

desperdicios alimentarios en función de sus desempeño ambiental y económico prometedores (Barros et al., 2020; Mago et al., 2021; Mishra et al., 2022; Ubando et al., 2022), coherentes con algunos de los ODS mencionados previamente (Boschiero et al., 2016; Gawel et al., 2019; Teigiserova et al., 2019).

## **1.2. Sistema de producción del banano y su biomasa residual**

El banano y el plátano pertenecen a la familia *Musácea*, consideradas como un cultivo perenne, a pesar de su consistencia herbácea. Son ampliamente cultivados en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo (Iriarte et al., 2014; Ortiz-Ulloa et al., 2021; Varma & Bebbber, 2019). La Figura 1 muestra las partes aéreas de la planta y la contribución promedio de cada una al peso fresco total de la planta, siendo el pseudotallo el que mayor aporta. Por razones de simplificación, nombraremos en este documento a ambos como bananos, haciendo la distinción necesaria entre ambos tipos de plantas cuando sea requerido. En sistemas de monocultivo para exportación, una vez que los bananos han alcanzado la madurez, se cosechan y las hojas y pseudotallos suelen dejarse en el suelo para descomposición por microfauna y microorganismos (Abdullah et al., 2013; Tarrés et al., 2017; Velásquez-Arredondo et al., 2010). Esta y otras prácticas utilizadas en la gestión de residuos, como la incineración y la eliminación en vertederos, no se consideran estrategias sostenibles o respetuosas con el medio ambiente (S. Costa et al., 2018; D'Amato et al., 2017). Los bananos cosechados son transportados a las instalaciones de manipulación y envasado, generalmente ubicadas en la finca, separados del raquis, lavados y clasificados de acuerdo con sus características físicas y de calidad. La fruta seleccionada se protege con fundas de plástico y se envasa en cajas de cartón para exportación (Iriarte et al., 2014; Svanes & Aronsson, 2013). Generalmente, las hojas y el pseudotallos quedan esparcidos en el campo, y el raquis se descarta y se colecta en el centro de beneficio, Ambos residuos puede tener varios destinos (Florian et al., 2019).





**Figura 1.** Contribución media de la biomasa aérea al peso fresco total de una planta de banano. Adaptado de Ortiz-Ulloa et al., (2021).

En Ecuador, desde el punto de vista del sistema productivo, el banano se puede clasificar en función del destino de la producción (autoconsumo, venta nacional o exportación), según la superficie cultivada (pequeños, medianos y grandes productores) y según el uso de agroquímicos (orgánico, convencional) (Elbehri, A., 2015; Iriarte et al., 2014).

### 1.3. Características químicas de la biomasa residual del banano

Es fundamental caracterizar la materia prima antes de su procesamiento químico, bioquímico y microbiológico (Batista Meneses et al., 2020; de Souza et al., 2017; Guerrero et al., 2018). Esta información define las operaciones necesarias para transformar la biomasa residual en una fuente de nutrientes para diferentes microorganismos (Palacios et al., 2017; Sarkar et al., 2019). La Tabla 1 muestra la composición química de la biomasa lignocelulósica residual del banano en porcentaje de peso seco, determinada en diferentes estudios.

**Tabla 1.** Composición química media de las partes aéreas de la planta de banano expresada como media en % de peso seco según varios autores.

Celulosa	Hemicelulosa	Lignina	Cenizas	Extractivos	Total	Especies de banano	Referencia
<i>Pseudotallo</i>							
44.32	22.0	9.66	14.00	-	89.98	<i>Musa spp.</i>	(Gabhane et al., 2014)
38.00	8.70	8.90	17.60	24.10	97,30	<i>AAA subgroup Cavendish.</i>	(Guerrero et al., 2016)

44.00	17.50	7.30	11.00	9.70	89.50	<i>Musa spp.</i>	(Abdullah et al., 2013)
20.10	9.60	10.10	18.50	14.70	-	<i>M. acuminata Colla (AAA) "Dwarf Cavendish"</i>	(Guerrero et al., 2018)
44.60	36.00	19.40	-	-	-	<i>Musa spp.</i>	(M. M. Hossain et al., 2019)
<i>Hoja</i>							
32.56	12.00	21.80	19.40	-	85.80	<i>Musa spp.</i>	(Gabhane et al., 2014)
21.90	12.80	21.50	15.70	18.00	88.60	<i>Musa spp.</i>	(Guerrero et al., 2016)
26.70	25.80	17.00	8.70	-	78.20		(E. R. K. Fernandes et al., 2013)
31.70	17.80	39.10	-	15.50	-	<i>Musa spp.</i>	(Abdullah et al., 2013)
<i>Raquis</i>							
36.14	7.00	16.43	26.80	-	86.40	<i>Musa spp.</i>	(Gabhane et al., 2014)
26.40	10.20	9.40	26.60	19.90	91.00	<i>Musa spp.</i>	(Guerrero et al., 2016)
36.50	22.30	26.50	15.20	-	-	-	(S. Costa et al., 2018)
26.10	11.20	10.80	29.90	18.20	-	<i>Dwarf Cavendish Grande</i>	(Guerrero et al., 2018)
35.30	17.90	6.00	28.50	9.70	-	<i>naine (Musa spp.)</i>	(Tiappi Deumaga et al., 2020)
<i>Cáscara de banano</i>							
23.37	12.33	12.33	12.75	-	-	<i>Tabasco variety</i>	(Palacios et al., 2017)
14.80	13.40	18.80	1.10	-	-	<i>M. cavendishii</i>	(Martínez-Trujillo et al., 2020)

Los componentes químicos analizados principalmente son celulosa, hemicelulosa y lignina. Se observa que el pseudotallo tiene una mayor concentración de celulosa (38,2%) en comparación con el raquis (32,1%), la hoja de banano (28,2%) y la cáscara (23,4%). Somerville et al., (2010) estiman que el contenido de celulosa es del 38-50% en peso de la biomasa lignocelulósica. Sin embargo, Watkins et al., (2015) indican que es del 10 al 25%. En Guerrero et al., (2018), el contenido de celulosa en el pseudotallo (20,1%) es inferior a los valores encontrados por otros autores. El contenido de celulosa en las hojas de banano (21-33%) y en el raquis (26-36%) varía considerablemente. El contenido de lignina, hemicelulosa y extractos en el pseudotallo varía entre los diferentes estudios. La hoja de banano tiene un alto contenido de hemicelulosa y lignina en comparación con el resto de la biomasa residual de banano. El raquis de banano tiene un mayor contenido de cenizas, probablemente debido a la presencia de minerales (Gabhane et al., 2014). Shimizu et al., (2018) afirman que la naturaleza lignocelulósica de la biomasa

residual del banano dificulta la digestión enzimática de la celulosa. En cuanto a la composición mineral en la cáscara de banano, los valores son bastante diferentes, esto puede deberse a la variedad de la especie y al manejo del cultivo.

Los extractivos representan las sustancias solubles en solventes orgánicos o acuosos presentes en la biomasa. Estos pueden incluir compuestos como resinas, grasas, aceites, taninos, ceras, entre otros. Su presencia varía significativamente según la parte de la planta analizada y puede influir en las propiedades físicas y químicas de la biomasa, así como en su susceptibilidad a los procesos de transformación (E. R. K. Fernandes et al., 2013; Guerrero et al., 2018).

#### **1.4. Transformación de la biomasa residual del banano**

Para que la biomasa residual sea revalorizada, primero debe pasar por una etapa de pretratamiento (Dáger-López et al., 2024; Fiallos-Cárdenas et al., 2022a). Las operaciones utilizadas en la etapa de pretratamiento pueden ser físicas, químicas, biológicas o una combinación de estas (S. Costa et al., 2018; Z. Lin et al., 2010; Świątek et al., 2020). El pretratamiento físico implica el uso de diferentes técnicas como el vapor, la trituración, la molienda, los ultrasonidos, las microondas o el secado. Por otro lado, el pretratamiento químico hace uso de reactivos ácidos, básicos u oxidantes. Por el contrario, el pretratamiento biológico puede ser con hongos (Jayanna et al., 2021) o sus enzimas (Alvira et al., 2010; Govumoni et al., 2013; Licari et al., 2016). La etapa de pretratamiento suele consistir en solubilizar la estructura de la hemicelulosa y reducir la composición de lignina de la biomasa (Licari et al., 2016; Shimizu et al., 2018), lo que facilita el acceso enzimático a los polímeros en la etapa de hidrólisis enzimática de la celulosa (Cotana et al., 2015; Suhag et al., 2020). Las enzimas se utilizan para reducir los azúcares complejos presentes en la biomasa, aumentando así la concentración de azúcares simples, como la glucosa, la galactosa, la arabinosa y la xilosa. Estos azúcares sirven como fuente de carbono en la etapa de fermentación (Cotana et al., 2015; Sun et al., 2016; Watkins et al., 2015).

La transformación de los residuos verdes agroindustriales mediante la biorrefinería de sus fracciones lignocelulósicas se encuentra actualmente en una intensa investigación. La biorrefinería es tanto un concepto estratégico que promueve la utilización integral y sostenible de la biomasa como una realidad física representada por las instalaciones industriales dedicadas a estos procesos de transformación. Entre los principales recursos agrícolas de biomasa, también se han caracterizado residuos de la industria bananera (Florian et al., 2019).

Respecto a la revalorización de la biomasa residual del banano, las hojas de banano se han utilizado

tradicionalmente como envases para ciertos alimentos (Erdiansyah et al., 2021; Rajagukguk & Arnold, 2021), obtención de micro/nanofibras lignocelulósicas para la fabricación de papel con menores costos de producción y mayores rendimientos que el método de producción de nanofibras de celulosa . Tarrés et al., (2017). En las cenizas de hoja de banano se han determinado su viabilidad como reemplazo parcial del cemento Portland ordinario (Thomas et al., 2021) o para producir concreto autocompactante (Mim et al., 2023). También se ha evaluado el uso de la fibra de la hoja de banano, que tiene el potencial de ser utilizado como material de refuerzo natural para una matriz polimérica de polietileno (Jumaidin et al., 2021) o para el vermicompostaje (Mago et al., 2021). Así mismo, Deepa et al., (2015) indicó que del raquis de banano ese puede obtener nanofibrillas de celulosa con un rendimiento del 28.6%, utilizando el proceso de explosión de vapor acoplado ácido.

Diferentes estudios demuestran el uso de la biomasa residual del banano para obtener (i) bioenergía, como bioetanol (Gonçalves Filho et al., 2013; Guerrero et al., 2016; Linzmeyer et al., 2019; Pazmiño-Hernandez et al., 2019; Sarkar et al., 2019), y biogás (Atinkut et al., 2020; Mboumboue & Njomo, 2018). Suhag et al., (2020) reportaron un rendimiento máximo de bioetanol de 0,38 g/g de azúcar, utilizando hoja de banano seca como fuente de carbono. (ii) compuestos de interés, como biofertilizantes (Phirke et al., 2001; Teigiserova et al., 2019), ácido láctico (Mufidah et al., 2017), carbón activado (Acevedo et al., 2021), biopolímeros (Naranjo et al., 2014), nanocelulosa bacteriana (Sijabat et al., 2019), entre otros compuestos de interés industrial.

La revalorización de la biomasa residual mediante procesos de base biológica es una tendencia actual (D'Amato et al., 2017; Duque-Acevedo et al., 2020; Egea et al., 2018; Waramit, 2012). Sin embargo, existen diferentes barreras para estos desarrollos, como los altos costos de producción en comparación con los productos obtenidos a partir del petróleo (Waramit, 2012) y la variabilidad de los atributos de calidad (composición física, estructural y química de la biomasa) puede afectar técnica y económicamente la operación de una biorrefinería (C. Li et al., 2016),(Kapp & Sumner, 2019; Ng et al., 2020; Williams et al., 2016). Estos atributos pueden variar debido a ciertos factores como el medio ambiente, el manejo del cultivo y la ubicación, lo cual resulta en una incertidumbre sobre el aporte de azúcares fermentables en los jugos extraído de la biomasa residual del banano.

### **1.5. Análisis tecnoeconómico de los bioproductos derivados de residuos de banano**

El ATE es una herramienta fundamental en la evaluación de la viabilidad de proyectos de biorrefinerías que buscan valorizar residuos agrícolas (Leal Silva et al., 2022; Martínez-Ruano et al.,

2018). La relevancia de esta herramienta radica en su capacidad para integrar tanto aspectos técnicos como económicos, permitiendo una comprensión holística del proceso productivo y su rentabilidad potencial (AbdElhafez et al., 2022; Dourado et al., 2018). En el contexto de la biorrefinería, el ATE proporciona información crucial para la toma de decisiones sobre inversiones y desarrollo de tecnologías, asegurando que los procesos sean no solo eficientes y sostenibles, sino también económicamente viables (Chaparro-Garnica et al., 2022; Martínez-Ruano et al., 2018).

Los residuos de banano, como cáscaras, tallos y pseudotallos, representan una fuente abundante y subutilizada de biomasa que puede ser transformada en una variedad de bioproductos de alto valor añadido, incluyendo biogás, bioetanol y bioplásticos como el Polihidroxitirato. La valorización de estos residuos a través de procesos de biorrefinería tiene el potencial de generar beneficios económicos significativos para los agricultores y la industria local (Leal Silva et al., 2022).

Se identificaron tres estudios sobre ATE de bioproductos y bioenergía obtenidos a partir de biomasa residual de banano. Estos estudios, resumidos en la Tabla 2, proporcionan una visión comprensiva de las metodologías empleadas y los resultados obtenidos en diferentes escenarios de producción y escalas de procesamiento.

**Tabla 2.** Características de los estudios de análisis tecnoeconómico (ATE) en la valorización de biomasa residual de la cadena de valor del banano.

Objetivos	Metodología	Principales conclusiones	Referencia
Evaluar el impacto ambiental y tecnoeconómico de la generación de biogás a partir de cáscara de banano ( <i>M. paradisiaca</i> ), considerando diferentes escalas de procesamiento.	El ATE se evaluó en términos de valor actual neto (VAN) utilizando el software Aspen Process Economic Analyzer. El análisis ambiental se realizó en base al balance general del proceso y al consumo neto de energía.	La producción de biogás a partir de cáscara de banano es una alternativa viable a través del modelo de biorrefinería y su rentabilidad dependerá de la capacidad de producción.	(Martínez-Ruano et al., 2018)
Análisis para la producción de electricidad a partir de bioetanol obtenido a partir de tallos de banano.	El ATE y el análisis ambiental se realizaron con el software HOMER (The Micropower Optimization Model, Homer Energy for LLC). Los datos se obtuvieron a través de investigaciones experimentales.	El bioetanol a partir del tallo de plátano genera menos CO <sub>2</sub> y SO <sub>2</sub> emisiones que el diésel. Asimismo, el ATE muestra que es más rentable producir electricidad a partir de bioetanol en comparación con el diésel.	(N. Hossain et al., 2019)
Se realiza un análisis técnico-económico y ambiental de la producción industrial de etanol a partir de 10 residuos agrícolas, incluyendo pseudotallos y cáscaras de banano.	El análisis tecnoeconómico se realizó con el software Aspen Process Economic Analyzer. El análisis ambiental se realizó en base al balance general del proceso y al consumo neto de energía; Se utilizó el software WAR	El pseudotallo de banano es el de mayor rendimiento (0,259 kg de etanol/kg de materia prima) entre los residuos analizados. Este rendimiento podría deberse a su bajo contenido de humedad, alto contenido de celulosa y hemicelulosa.	(Duque et al., 2015)

Análisis técnico-económico y ambiental para la producción de Polihidroxibutirato (PHB) a partir de banano y cáscara de banano rechazados.	El ATE se realizó en el software Aspen Economic Analyzer y el impacto ambiental se determinó en el software WAR-GUI.	La producción de PHB bajo el concepto de biorrefinería podría disminuir los costos de producción y tener impactos ambientales negativos.	(Naranjo et al., 2014)
---	--	--	------------------------

Con base en los estudios de la Tabla 2, se observa que los estudios no son directamente comparables entre sí ya que la metodología en cuanto a la materia prima utilizada y al producto final obtenido varía entre ellos. No obstante, los estudios muestran una metodología consistente en el ATE. Los estudios realizados por N. Hossain et al., (2019), y Martínez-Ruano et al., (2018) concluyen que el pseudotallo del banano podría utilizarse como materia prima con potencial para la producción de bioenergía económicamente viable.

Las biorrefinerías son una alternativa para la producción de bioenergía y diferentes bioproductos de interés; sin embargo, todavía es un sector emergente. Por lo tanto, se deben seguir desarrollando modelos de biorrefinerías más avanzados que permitan procesos de conversión integrados y produzcan una mayor variedad de productos de interés industrial (Hassan et al., 2019).

### **1.6. Análisis del ciclo de vida ambiental de los sistemas agrícolas del banano**

A pesar de la importancia del cultivo de banano para el desarrollo económico de las regiones productoras, especialmente en países tropicales donde el banano es una fuente clave de ingresos y empleo (Guerrero et al., 2016, 2018; Iriarte et al., 2014), existen pocos estudios de ACV que aborden este producto (Coltro & Karaski, 2019; Iriarte et al., 2014; Roibás et al., 2015; Svanes & Aronsson, 2013).

El ACV es una metodología que evalúa los impactos ambientales de un producto a lo largo de su ciclo de vida, desde la extracción de materias primas hasta la disposición final. Entre los indicadores más comunes en los ACV de banano se encuentran el Potencial de Calentamiento Global, comúnmente denominado huella de carbono (HC), y la Huella Hídrica.

En este contexto, la Huella de Carbono mide la cantidad total de gases de efecto invernadero (GEI) emitidos durante el ciclo de vida del banano, expresada en kilogramos de CO<sub>2</sub> equivalente por kilogramo de banano de exportación (kg CO<sub>2</sub>-eq kg<sup>-1</sup>). Este indicador es crucial para evaluar la contribución del cultivo, procesamiento y transporte del banano al cambio climático.

Así mismo, la Huella Hídrica evalúa el volumen total de agua utilizada en el ciclo de vida del producto, expresado en litros por kilogramo de banano (l kg<sup>-1</sup>). Este indicador es importante para evaluar el consumo de recursos hídricos y los posibles impactos sobre los recursos acuáticos en las áreas de

cultivo.

La mayoría de los estudios revisados han reportado al menos la Huella de Carbono. Los resultados indican una variación entre 0,22 y 1,37 kg de CO<sub>2</sub>-eq kg<sup>-1</sup> banano de exportación. Ver Tabla 3. Los resultados de la huella hídrica del ciclo de vida oscilan entre 313 y 330 l kg<sup>-1</sup> banano (Coltro & Karaski, 2019; Roibás et al., 2015). Cuando se incluye, el transporte refrigerado al extranjero es el que más contribuye a la HC (Iriarte et al., 2014; Svanes & Aronsson, 2013), cuando no, la producción primaria es la mayor contribución (Iriarte et al., 2014; Roibás et al., 2015). Cuando no se incluye el transporte, la contribución del embalaje se sitúa entre el 7 y el 13% (Coltro & Karaski, 2019; Roibás et al., 2015). Cabe señalar que, además de los límites del sistema, algunos otros problemas pueden hacer que los resultados del ACV no sean comparables, como las opciones metodológicas, los supuestos de modelado, los criterios de corte, los modelos de caracterización, la tecnología y las prácticas en sí, entre otros.

**Tabla 3.** Resultados de la huella de carbono del banano en la literatura

Unidad Funcional (UF)	Límites del sistema simplificado	Huella de carbono (kg CO <sub>2</sub> -eq/UF)	Referencia
1 Kg de banano <i>Cavendish</i> , vendido a un cliente en Noruega	Agricultura, embalaje, transporte al extranjero, transporte al por mayor, al por menor.	1,37	(Svanes & Aronsson, 2013)
1 Kg de banano <i>Cavendish</i> , consumido en Noruega	Agricultura, embalaje, transporte al extranjero, transporte al por mayor, al por menor, consumo, gestión de residuos.	1,77	
1 Kg de banano <i>Prata</i> , disponibles al por menor en el mercado interno	Agricultura, envasado, venta al por menor.	0,209	(Coltro & Karaski, 2019)
1 Kg de banano <i>Cavendish</i> , disponibles al por menor en el mercado nacional	Agricultura, envasado, venta al por menor.	0,226	
1 kg de fruta <i>Cavendish</i> que llega a la etapa de consumo, teniendo en cuenta las pérdidas de producto a lo largo de la cadena de valor	Agricultura, embalaje, transporte de ultramar, transporte europeo, venta al por menor, consumo.	1,28	(Roibás et al., 2015)
	Agricultura convencional, envasado.	0,302	
	Agricultura ecológica, empacado.	0,249	
1 kg de banano ecuatoriano <i>Cavendish</i> de primera calidad entregado a un puerto europeo	Agricultura, embalaje, transporte de ultramar.	0,45	(Iriarte et al., 2014)

Por lo general, los estudios de ACV que tratan de la EC con respecto a los residuos agrícolas tienen un enfoque basado en la producción. Los productos de base biológica o bioenergía derivada de residuos

es el principal producto del sistema. Los límites del sistema pueden incluir la producción agrícola (Araujo et al., 2022; Boschiero et al., 2016; Shi & Guest, 2020). Otro enfoque utilizado es el ACV basado en insumos, como en los sistemas de gestión de residuos (Arfelis et al., 2023; Boschiero et al., 2016; Chaparro-Garnica et al., 2022). En cualquiera de los enfoques, debe proporcionarse información sobre la cantidad de residuos de cada parte de la cadena del ciclo de vida que se tiene en cuenta en el inventario.

El ACV se ha convertido en la principal herramienta para evaluar la sostenibilidad de la economía circular (Bartek et al., 2021; Chaparro-Garnica et al., 2022; Fitzgerald et al., 2021)(Peña et al., 2021) y de los sistemas de bioeconomía circular (Munagala et al., 2021). Un enfoque valioso sería centrarse en el principal producto agropecuario (el banano) y ampliar el sistema para incluir todos los efectos asociados con sus productos derivados de residuos en el mismo sistema y en otras cadenas de valor. Sin embargo, esto daría lugar a un ACV muy exigente en recursos.

### **1.7. Barreras a la transición hacia una bioeconomía más circular en la cadena de valor del banano**

Es fundamental identificar los actores/partes interesadas para la transición de una economía lineal a una bioeconomía más circular y las barreras que deben superarse. En la Tabla 4 se enumeran algunas barreras para la transición a un modelo económico circular encontradas en la literatura.

**Tabla 4.** Actores y barreras para la transición hacia una bioeconomía circular

<b>Actor</b>	<b>Barrera</b>	<b>Referencia</b>
Gobierno nacional	Falta de instrumentos de política para fomentar el desarrollo tecnológico e impulsar la demanda. Además, la falta de visión a largo plazo y de consenso sobre la dirección del cambio.	(Gottinger et al., 2020)
	Carencia de instrumentos de política diferenciados para abordar las debilidades del sistema, como la formación de mercados, que es el principal cuello de botella de los sistemas de innovación.	(Wydra, 2019)
	La burocracia en los procesos de desarrollo y la estabilidad política	(Angouria-Tsorochidou et al., 2021)
Sector privado	Las empresas de base biológica son nichos de mercado y, por lo tanto, requieren poca biomasa residual como materia prima, y los procesos para la obtención de bioproductos requieren personal con habilidades y educación en diferentes áreas del conocimiento como ingeniería, biotecnología, matemáticas y estadística. Este contexto dificulta la contratación de personal adecuado. El sector privado enfrenta dificultades considerables, como altos costos de tecnología e infraestructura, así como requisitos regulatorios complejos que dificultan la operación eficiente. La falta de colaboración efectiva entre sectores público y privado también impide la transferencia óptima de tecnología, limitando el desarrollo y la escalabilidad de estas empresas.	(Philp, 2018)  (Lokko et al., 2018)
Sociedad civil	Varios factores pueden influir en las decisiones de los agricultores sobre el manejo de los residuos agrícolas y su uso como materia	(Härrri et al., 2020)



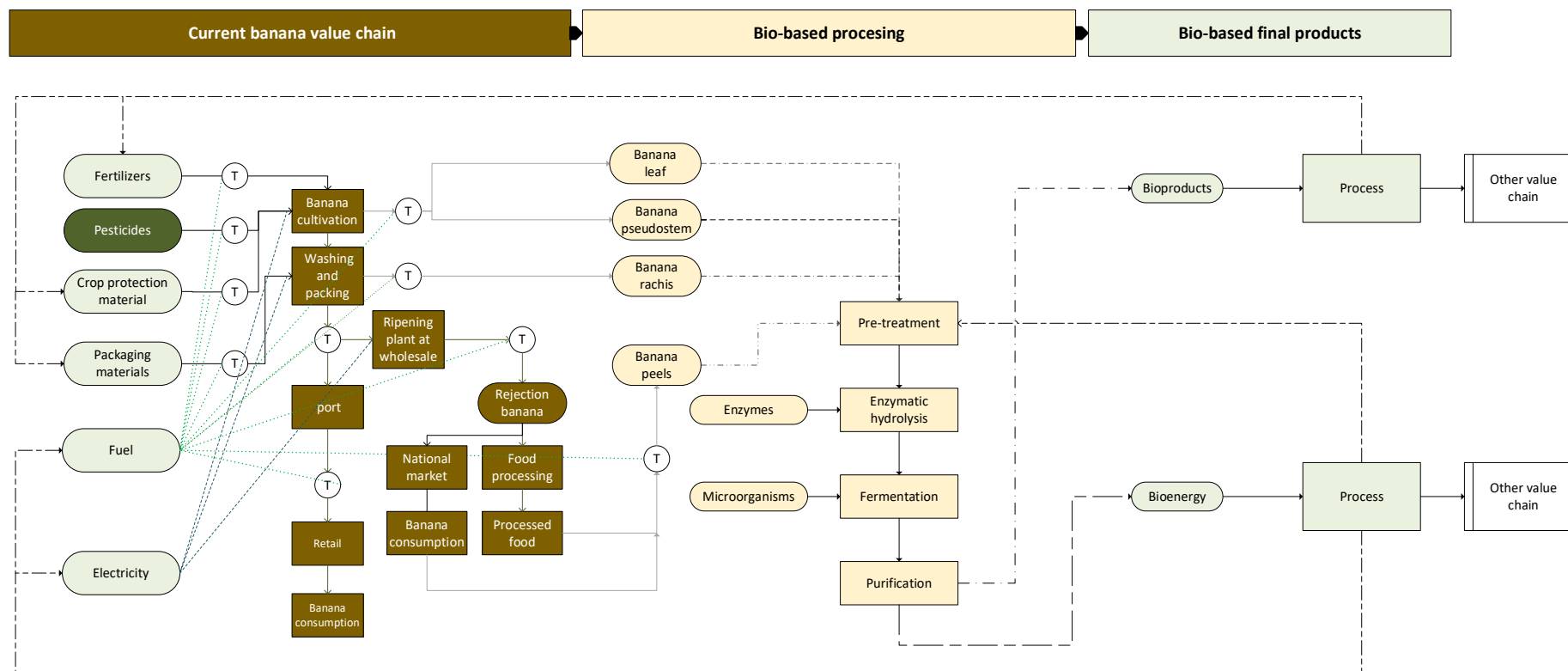
	<p>prima en modelos circulares, incluida la falta de acceso al crédito o a subsidios gubernamentales para la compra de equipos o infraestructura, la baja demanda del mercado, los precios de venta bajos o variables. Algunos agricultores creen que quemar residuos mejora las propiedades nutricionales y físicas del suelo, aunque también hay desconocimiento sobre los efectos negativos de esta práctica.</p> <p>Los agricultores de más edad se resisten al cambio debido a la falta de conocimiento sobre la estructura del mercado. No están dispuestos a cambiar sus prácticas agrícolas tradicionales. Los agricultores con mayores niveles de educación tienen más probabilidades de formar parte del mercado circular.</p>	(Ymeri et al., 2020)
Academia – investigación (I+D+i)	<p>No existe un enfoque de base biológica en las tecnologías actuales. Las tecnologías con potencial para valorizar la biomasa son innovaciones de nicho y requieren apoyo político.</p> <p>La gestión ineficiente y la distancia a plantas de procesamiento elevan los costos. Además, los conflictos entre explotaciones agrícolas y plantas de bioprocesos limitan la integración de procesos.</p>	(Laibach et al., 2019)
		(Kircher, 2014)

### **1.8. Perspectivas para una bioeconomía circular basada en la biomasa residual del banano**

Las prácticas actuales de gestión de los residuos generados en el sistema de producción bananera, como la incineración y el vertedero, no se consideran estrategias respetuosas con el medio ambiente. La valorización de esta biomasa residual y su reinserción en el sistema productivo con un enfoque de "cierre de círculo" es una estrategia que podría reducir la generación de residuos y las emisiones de GEI en el cultivo del banano, además de promover el desarrollo de la bioeconomía y el cumplimiento de algunos de los ODS. El exceso de biomasa residual generada por el sistema de producción del banano en un modelo agroexportador y su composición química en términos de contenido de celulosa, hemicelulosa y lignina la convierten en una materia prima atractiva para acoplar la producción de bioenergía y bioproductos. El proceso de valorización económica de estos residuos suele constar de las siguientes etapas de transformación: pretratamiento, hidrólisis química, hidrólisis enzimática, fermentación y purificación. Sin embargo, utilizar el jugo extraído de la biomasa del banano como fuente de carbono es un proceso más sencillo, económico y sostenible.

En esta sección se propone un sistema para la valorización de la biomasa residual de banano, utilizando estos residuos como materia prima (entrada) para la obtención de bioproductos y bioenergía (salidas). La Figura 2 resume la propuesta, misma que se basa en un sistema convencional de producción de monocultivo de banano (Acevedo et al., 2021; Iriarte et al., 2014) y se subdivide en la cadena de valor actual del banano de exportación, el procesamiento de base biológica, y los productos finales de base biológica.

En este esquema, la biomasa residual debe pasar primero por un pretratamiento basado en un método físico-mecánico para aprovechar la energía producida por el proceso biobasado. A continuación, la biomasa pretratada pasa por un proceso de hidrólisis celulósica enzimática, transformando los azúcares complejos en azúcares fermentables simples. Estos azúcares servirán como fuente de carbono para los procesos metabólicos de los microorganismos. Dependiendo de las características del microorganismo, se establecen las condiciones para la etapa de fermentación. Como producto de esta etapa se pueden obtener compuestos como etanol, Polihidroxitirato (PHB), ácido láctico, metano, nanocelulosa bacteriana, entre otros. Estos bioproductos deben purificarse mediante métodos físicos o químicos antes de ser utilizados como materia prima para producir productos de base biológica. Por ejemplo, el etanol al 100% podría utilizarse como insumo en equipos de generación de electricidad y como combustible para el sector del transporte. Los biopolímeros también podrían utilizarse para producir materiales de protección o envases utilizados en la cadena de valor del banano u otros sistemas de producción. De esta manera, se reduciría el consumo de compuestos de síntesis química a base de petróleo, reduciendo la generación de GEI a partir del sistema de producción bananera.



**Figura 2.** Diagrama de flujo de biomasa lignocelulósica residual para una bioeconomía circular basada en la cadena de valor actual del banano de exportación (rectángulo superior izquierdo color olivo). En amarillo se ilustra una etapa que incluye varios procesos potenciales en el que la biomasa se emplea como fuente de carbono y energía en un proceso de base biológica (fermentación microbiana). Estos procesos pueden ser complementarios o alternativos, y generan diversos productos en función de las condiciones de fermentación y los microorganismos utilizados. En términos generales, los productos finales se agrupan en la etapa señalado por el color verde claro pueden sustituir total o parcialmente insumos de la cadena de valor del banano, u otras. Las líneas continuas, representan los flujos actuales y reales de entrada y salida a través de las distintas etapas de producción. Estas líneas indican los procesos y flujos que están en funcionamiento en la cadena de valor del banano de exportación en la actualidad. Líneas discontinuas, señalan los flujos de entrada y salida propuestos para procesos potenciales, es decir, aquellos que podrían ser implementados en el futuro. Estas líneas representan la biomasa y los bioproductos involucrados en procesos de base biológica que son complementarios o alternativos a los existentes. T: transporte.

Esta propuesta de nueva cadena de valor bananera considera varios aspectos conceptuales de la bioeconomía, tales como (i) la gestión de residuos (Lokko et al., 2018), (ii) la descarbonización fósil (Atinkut et al., 2020; van Zyl et al., 2011), (iii) creación de nuevos sectores y cadenas (Stegmann et al., 2020), (iv) nuevos bioproductos, y (v) aprovechamiento de biomasa residual (Muscio & Sisto, 2020). Este esquema se basa en procesos de base biológica con un enfoque de biorrefinería. Permitir la producción de bioproductos como la bioenergía y los bioplásticos, que puedan ser utilizados como insumos en la cadena de valor del banano u otros sectores productivos contribuyendo a la consecución del ODS 2, producción sostenible de alimentos, ODS 7 energía asequible para todos, y ODS 8, nuevas fuentes de trabajo decente y desarrollo económico sostenible. Además, el concepto de biorrefinería se asocia a la posibilidad de cerrar ciclos productivos a través de la valorización de la biomasa residual de banano y procesos innovadores, contribuyendo al ODS 9, industria e innovación, y al ODS 12, producción y consumo responsables.

### **1.9. Límites y Posibilidades en la Valoración de Biomasa Residual del Banano**

Por otro lado, se ha dicho que a veces los enfoques circulares no consideran los límites termodinámicos del sistema y, por lo tanto, son poco realistas (Cullen, 2017; Geissdoerfer et al., 2017; Giampietro, 2019). Sin embargo, se reconoce que es necesario utilizar insumos externos en cada proceso, como fertilizantes. Además, la energía solar y el dióxido de carbono son insumos externos para la fotosíntesis durante la producción primaria. Se estima que es posible "cerrar el círculo" en la cadena de valor del banano en términos de energía. Las revisiones de los análisis tecnoeconómicos muestran el potencial de la biomasa residual del banano para la producción de bioenergía. Sin embargo, la producción de envases a través de procesos de base biológica necesita más investigación. El esquema propuesto debe tener un enfoque de biorrefinería para ser económicamente viable.

Se necesitan más estudios para evaluar el potencial de los residuos de banano como materia prima para producir diferentes bioproductos que puedan sustituir o reducir el uso de productos basados en la síntesis del petróleo. La creciente necesidad de materiales biodegradables, impulsada por empresas, entidades gubernamentales y consumidores, refleja la urgencia de abordar el impacto ambiental asociado al estilo de vida contemporáneo (Salazar et al., 2022; Y. Zhu et al., 2016). En este contexto, la celulosa se posiciona como un recurso fundamental debido a su alta disponibilidad, capacidad de renovación y degradabilidad natural (Arfelis et al., 2023; Deepa et al., 2015).

### **1.10. Celulosa vegetal y bacteriana**

La celulosa es un biopolímero de alto peso molecular con unidades de glucosa unidas por enlaces  $\beta$ -1,4-glicosídicos (Jonas & Farah, 1998). Su fórmula molecular es  $(C_6H_{10}O_5)_n$ , donde "n" es el número de unidades de glucosa enlazadas que componen la cadena polimérica. En la biomasa vegetal, la celulosa es el principal componente de la pared celular derivado de fuentes como las plantas y la madera (Deshmukh et al., 2021). Además, la síntesis de celulosa también la llevan a cabo ciertos organismos, como las algas verdes (*Valonia*) y los microorganismos, incluidas especies bacterianas Gram negativas como *Acetobacter* y *Agrobacterium* (El-Gendi et al., 2023; Gromovykh et al., 2017; Saleh et al., 2022), y Gram positivas como *Lactobacillus* (Saleh et al., 2022). A este tipo de celulosa se lo conoce como celulosa bacteriana o NBC. En particular, la especie Gram-negativa *Gluconacetobacter xylinus*, antes denominada *Acetobacter xylinum*, es el productor más común de NCB (El-Gendi et al., 2023; Portela da Gama & Dourado, 2018).

La celulosa vegetal y la NCB presentan similitudes y diferencias en cuanto a estructura y propiedades. Ambas son celulosas con una estructura química similar (Andriani et al., 2020). Sin embargo, la NCB se caracteriza por una mayor cristalinidad y grado de polimerización en comparación con la celulosa vegetal, lo que le confiere una resistencia y elasticidad superiores (Cheng et al., 2017). Además, la estructura cristalina de la NCB presenta nanoestructuras que forman una red de microfibrillas y macrofibrillas, lo que le confiere una elevada capacidad de absorción de agua y mejora su estabilidad mecánica (El-Naggar et al., 2022), también se caracteriza por una nanoestructura más homogénea, compuesta principalmente por alomorfos I $\alpha$  e I $\beta$  (Gromovykh et al., 2017). La estructura de la NCB puede variar en función de su origen y método de extracción. Además, es un biopolímero puro, libre de lignina, hemicelulosas y pectina, moléculas no degradables asociadas a la toxicidad de las celulosas vegetales (Ul-Islam et al., 2011). Es importante señalar que el coste de producción de NCB suele ser más elevado que el del proceso de obtención de celulosa vegetal (Kamal et al., 2022; Ross et al., 1991).

### **1.11. Métodos de Producción de Celulosa**

La celulosa se produce mediante dos estrategias principales: síntesis química o síntesis bioquímica (fermentación). En la síntesis química, la celulosa se extrae de la biomasa lignocelulósica (BL) mediante un enfoque descendente que implica métodos mecánicos y químicos para aislar y purificar las nanofibras de celulosa (NFC) y los nanocristales de celulosa (NCC) (Trache et al., 2017). En este proceso, la BL se somete a tratamientos físicos para reducir su tamaño, seguidos de un tratamiento químico intensivo que

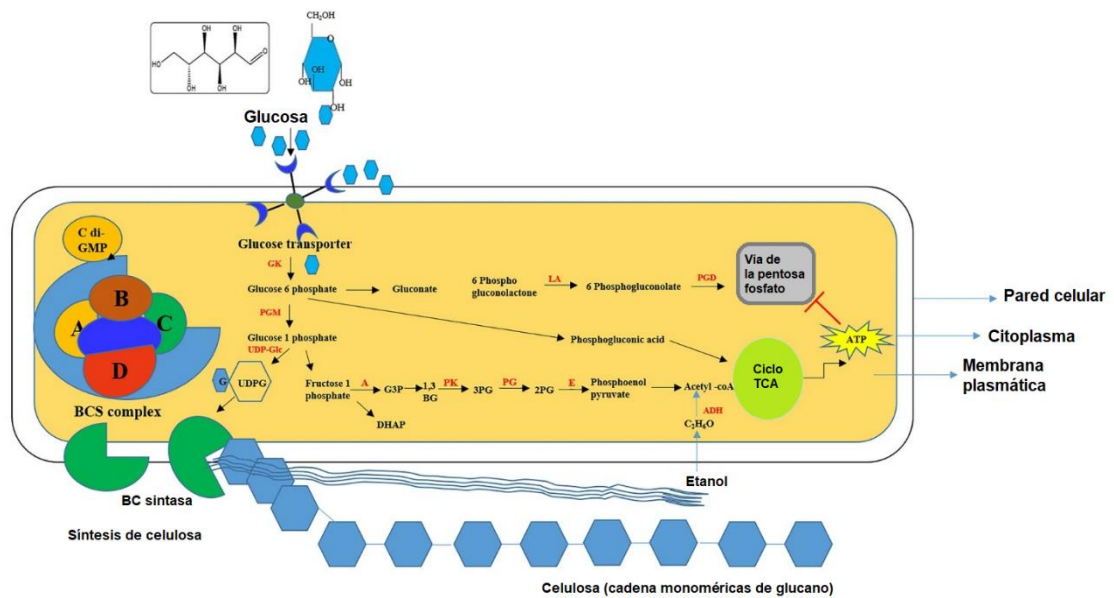
incluye el despulpado y el blanqueo con hidróxido de sodio (NaOH) y sulfuro de sodio (Na<sub>2</sub>S), y una etapa de blanqueo con dióxido de cloro (ClO<sub>2</sub>) (Mujtaba et al., 2023). Sin embargo, este método presenta retos económicos y medioambientales, ya que la cristalinidad de la celulosa puede degradarse parcialmente durante el proceso, lo que reduce el rendimiento de celulosa y conlleva una costosa recuperación de otros componentes presentes en la lignocelulosa, como la hemicelulosa y la lignina. Además, la producción de NFC o NCC plantea retos en términos de intensidad energética, uniformidad del producto y uso de ácidos minerales corrosivos que producen residuos ácidos (Batista et al., 2023; Mujtaba et al., 2023; Trache et al., 2017).

Por otro lado, el método de fermentación representa un enfoque ascendente mediante el uso de microorganismos para transformar monosacáridos en productos más complejos, como la NCB (El-Gendi et al., 2023; El-Naggar et al., 2022). En este proceso, la biomasa lignocelulósica se somete a procesos físicos, y/o tratamientos químicos y biológicos para obtener los azúcares que contiene (Akintunde et al., 2022; Amorim et al., 2019; Andriani et al., 2020). Ciertas bacterias pueden utilizar estos azúcares para sintetizar NCB, que se produce por secreción en la membrana externa de las células bacterianas (Anguluri et al., 2022; Anusuya et al., 2020).

La síntesis de NCB en *K. xylinus* implica varios pasos críticos: la producción del precursor uridina difosfato glucosa (UDP-Glc), la síntesis de la cadena de celulosa, la polimerización y la cristalización. El proceso comienza con la conversión de glucosa, obtenida de compuestos de carbono a través del ciclo de las pentosas fosfato y el ciclo del ácido tricarboxílico, en glucosa-6-fosfato. Este paso es catalizado por la glucoquinasa, seguida por la acción de la fosfoglucosa mutasa, que transforma la glucosa-6-fosfato en glucosa-1-fosfato (G-1-P). Posteriormente, G-1-P se convierte en UDP-Glc mediante la pirofosforilasa UDP-Glc, un paso fundamental para la síntesis de celulosa, dado que algunas cepas mutantes deficientes en esta enzima presentan una reducción en la producción de celulosa (Amorim et al., 2019; Cheng et al., 2017).

La celulosa sintasa, ubicada en la membrana celular, utiliza UDP-Glc para formar celulosa. La enzima cataliza la adición de residuos de glucopiranososa de UDP-Glc a una nueva cadena de glucano β1-4, añadiendo glucosa al extremo no reductor del polisacárido en formación. Una vez sintetizada, la cadena de glucano se polimeriza y cristaliza antes de ser exportada fuera de la célula (El-Naggar et al., 2022; Kamal et al., 2022). Las cadenas de glucano se sintetizan primero en la membrana interna y luego se secretan para formar protofibrillas de tamaño nanométrico (2-4 nm). Estas protofibrillas se agregan estrechamente para formar fibras NCB de 20-100 nm de diámetro (Ross et al., 1991; X. Wang & Zhong,

2022; Zeng et al., 2014). El diagrama esquemático se puede observar en la **Figura 3**.



**Figura 3.** Diagrama esquemático de la vía de síntesis de celulosa bacteriana en el género *Komagataeibacter* donde se muestra los principales metabolitos y enzimas involucrados en el proceso. DHAP Dihidroxiacetona, G3P Gliceraldehído 3 fosfato, PG Fosfoglicerato, Cdi-GMP Ácido diguanílico cíclico, GK-glucoquinasa, PGM fosfoglucomutasa, PGD 6 fosfogluconato deshidrogenasa, ADH alcohol deshidrogenasa, A aldolasa, PK Fosfoglicerato quinasa, PG Fosfoglucomutasa, LA Lactonasa y E Enolasa. Tomado de Kumar et al., (2024).

En *K. xylinus*, la síntesis de celulosa está controlada por el operón *bcsABCD*, que consta de cuatro genes responsables de la producción de celulosa. Los genes *BcsA* y *BcsB* son esenciales para la actividad de síntesis de celulosa in vitro, mientras que *BcsC* y *BcsD* están involucrados en el empaquetamiento y transporte de las moléculas de glucano hacia la superficie celular (X. Li et al., 2023). Además, tres genes adicionales, *ccpA*, *bcsZ* y *bglX*, localizados en el locus BCS, desempeñan roles complementarios en la regulación y la hidrólisis del glucano (Omadjela et al., 2013). El gen *ccpA* (Celulosa Complementaria Proteína A) es crucial para la síntesis de celulosa y afecta la expresión de *BcsB* y *BcsC*, interactuando con *BcsD* para organizar las cadenas de glucano en cintas cristalinas. El operón *bcs* tipo I incluye genes *bcsA* y *bcsB*, a menudo fusionados y escindidos postraducción, mientras que el gen *bcsD* dirige la exportación de glucanos desde el periplasma. El operón *bcs* tipo II contiene genes *bcsE* y *bcsG*, pero carece de *bcsD* (Reiniati et al., 2017).

Entre las proteínas del operón *bcs*, *BcsA* es la más conservada y se encuentra en la membrana citoplasmática con segmentos transmembrana y dominios citoplasmáticos, jugando un papel catalítico en la síntesis de celulosa y en la unión al sustrato UDP-glucosa. *BcsB*, una proteína en forma de cúpula facilita la translocación de cadenas de glucano a través de la membrana. *BcsC*, una proteína periplásmica con múltiples dominios organiza el complejo BCS y exporta el glucano fuera de la célula. *BcsD*, un

tetrámero de dímeros en forma de barril, estabiliza el complejo BCS y organiza las subunidades en la membrana plasmática (Nascimento et al., 2021).

El factor complementario de celulosa (CcpA), también conocido como BcsH, interactúa con BcsD en el periplasma y es esencial para la actividad de BCS (Mishra et al., 2022; Singhanía et al., 2022). Además, BcsZ, una proteína de dominio único secretada en el periplasma, participa en la reducción de la celulosa microfibrilar y en el empaquetamiento de fibrillas, así como en la biosíntesis de celulosa y la codificación de una  $\beta$ -1,4-glucanasa (Reiniati et al., 2017; Singhanía et al., 2022).

La NCB ha ganado popularidad debido a su sencillo proceso de producción, no toxicidad, alta pureza, biocompatibilidad, y respetuoso con el medio ambiente (Chandana et al., 2022). Se puede obtener NCB en la producción de alimentos como la nata de coco (Halib & Amin, 2012; J. Zhang et al., 2017). Además, esta celulosa puede ser producida a partir de diversas fuentes de biomasa mediante estrategias más sostenibles, como en la fermentación del té de kombucha (TK).

### **1.12. Producción de Nanocelulosa Bacteriana a través de la Fermentación de Té de Kombucha**

El TK se fermenta utilizando un cultivo simbiótico de levaduras y bacterias conocido como SCOBY (Tefon Öztürk et al., 2023; Yassunaka Hata et al., 2023). SCOBY es un consorcio microbiano que incluye levaduras, bacterias del ácido acético (BAA) y bacterias del ácido láctico (BAL) (Dartora et al., 2023; Pradhan et al., 2023). Este cultivo se utiliza junto con té negro o verde para preparar el TK (Dartora et al., 2023; Kapp & Sumner, 2019). El té verde contribuye principalmente con cuatro derivados polifenólicos: (-)-epicatequina (EC), (-)-epicatequina-3-galato (ECG), (-)-epigallocatequina (EGC) y (-)-epigallocatequina-3-galato (EGCG). Por su parte, el té negro aporta principalmente dos derivados polifenólicos: la teaflavina y las terubiginas. Estos té también proporcionan una fuente de nitrógeno para la fermentación (Costa et al., 2022; Dima et al., 2017).

Durante la preparación del TK, la bebida fermenta durante 7 a 14 días en condiciones estáticas, aeróbicas y en ausencia de luz (Bhattacharya et al., 2013; Chakravorty et al., 2019). Como flujo lateral de la fermentación, se obtiene una biopelícula que contiene NCB, conocida como hongo del té (HT), que se forma en la interfaz gas-líquido del recipiente (Aditiawati et al., 2023; Dartora et al., 2023; Landis et al., 2022). El TK tiene notables propiedades nutricionales (Costa et al., 2022; Dartora et al., 2023; Laavanya et al., 2021; Zailani & Adnan, 2022) y su consumo ha aumentado en los últimos años (Bhattacharya et al., 2013; Chakravorty et al., 2019; Costa et al., 2022).



## CAPÍTULO II INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

Parte de los capítulos II a V se basan en la publicación titulada “Bacterial Nanocellulose Derived from Banana Leaf Extract: Yield and Variation Factors,” aceptada en la revista Resources el 27 de noviembre de 2021.

### 2.1. Introducción

El elevado costo asociado a los medios de fermentación, que representa aproximadamente el 30% del costo total de producción, constituye un desafío significativo para cumplir con los estándares de fabricación comercial (Fernandes et al., 2020). Los medios convencionales para la fermentación de NCB suelen incluir soluciones complejas y costosas, como el medio de cultivo de Hestrin-Schramm (HS) y otras formulaciones ricas en nutrientes, que contienen azúcares específicos, fuentes de nitrógeno, y otros aditivos esenciales para el crecimiento óptimo de las bacterias (Hestrin & Schramm, 1954; Singhanian et al., 2022).

En las últimas décadas, la utilización de residuos agroindustriales para la producción sostenible de NCB ha emergido como una alternativa prometedora y rentable frente a estos medios convencionales (Abol-Fotouh et al., 2020; Amorim et al., 2019; Cerrutti et al., 2016; Dima et al., 2017). Se destacan aquellos residuos que contienen monosacáridos de 5 y 6 carbonos (Avcioglu, 2022), además de ser ricos en compuestos nitrogenados que desempeñan un papel crucial en la reproducción celular y el soporte estructural, mientras que la fuente de carbono juega un papel fundamental en estimular el crecimiento y el metabolismo celular (Sharma et al., 2019; Yim et al., 2017). En este contexto, el jugo de raquis y la nervadura del banano son ejemplos de recursos que poseen compuestos químicos potencialmente útiles en el proceso de producción de NCB. Ver Tabla 5.

**Tabla 5.** Composición química de la hoja y raquis de banano

Azúcar (% p/p)	Proteína (% p/p)	Almidón (% p/p)	Ceniza (% p/p)	COT <sup>1</sup> (g/kg)	FTD <sup>2</sup> (g/kg)	NTK <sup>3</sup> (g/kg)	C:N <sup>4</sup>	C:P <sup>5</sup>	Especie	Referencia
<i>Hoja</i>										
1.15	8.30	1.10	19.40	-	-	-	-	-	Dwarf Cavendish	(Oliveira et al., 2007)
-	-	-	29.50	40.8	5.90	7.10	57.46	69.15	Musa paradisica	(Mago et al., 2021)
-	-	-	7.26	-	-	-	33.81	-	-	(Singh et al., 2020)
<i>Raquis</i>										

0.94	2.00	1.40	26.80	-	-	-	-	-	Dwarf Cavendish	Oliveira et al., 2007)
-	4.30	-	28.50	-	-	-	-	-	Grande naine	(Florian et al., 2019)

(1) Carbono orgánico total (COT), (2) fósforo total disponible (FTD), (3) nitrógeno total Kjeldhal (NTK), (4) relación carbono - nitrógeno (C:N), (5) relación carbono - fosforo (C:P).

Este trabajo de investigación se centra en analizar el empleo de hojas y raquis de banano como fuente de nutrientes para la producción de NCB, aprovechando sus propiedades químicas que podrían servir como una alternativa económica en el proceso de fabricación de NCB. En el contexto actual, se han realizado investigaciones sobre el uso del jugo obtenido de las hojas del banano. Chai et al., (2018) encontraron que el jugo prensado de hoja de banano posee un alto contenido de glucosa (16.6 g/l), utilizado posteriormente en la producción de lipasas. Por su parte, Tan et al., (2019) emplearon jugo extraído de hoja de banano (JEHB), el cual contiene un total de azúcares del 14%, con concentraciones específicas de glucosa (18.9 g/l), sacarosa (13.29 g/l) y fructosa (15.63 g/l), con un volumen total de 0.33 l JEHB/kg de hoja de banano y un rendimiento teórico del 75% para la obtención de bioetanol. Estos resultados demuestran el potencial del jugo de la hoja de banano como fuente de carbono en el proceso de fermentación de diferentes microorganismos.

Por otro lado, se ha determinado que el jugo obtenido del raquis de banano contiene alcaloides, polifenoles, flavonoides, saponinas, taninos gálicos y terpenoides (Seri et al., 2022). Estos compuestos pueden afectar negativamente el proceso de fermentación, ya que pueden inhibir la actividad de las levaduras debido a sus efectos tóxicos y su capacidad para interferir en las células y enzimas involucradas en el proceso fermentativo (Dubeau & Young, 1982; Ito et al., 2005).

En este sentido, el ozono (O<sub>3</sub>), un agente oxidante potente, tiene la capacidad de degradar diversos compuestos orgánicos, incluidos los mencionados anteriormente (Battimelli et al., 2010; Cavka et al., 2015; Rosen et al., 2019; Travaini et al., 2016; Vidal & Molinier, 1988). El pretratamiento con ozono es una técnica adecuada para la mejora de la biodegradabilidad de las aguas residuales de fermentación de melaza, en condiciones aeróbicas, anaeróbicas y anóxicas (Battimelli et al., 2010). En la industria vinícola, se ha demostrado que el tratamiento con ozono de jugos de uva ricos en polifenoles mejora la fermentación alcohólica al reducir la concentración de compuestos inhibidores (Mostashari et al., 2022).

El desarrollo en el campo de la NCB es de gran relevancia en la investigación actual, dado que tiene aplicaciones en diferentes sectores, como la medicina, la alimentación y la cosmetología (Abol-Fotouh et al., 2020; El-Naggar et al., 2022; Portela da Gama & Dourado, 2018), se puede producir de forma

sostenible (Chandana et al., 2022; Kamal et al., 2022) y exhibe propiedades físicas y bioquímicas únicas (Alves et al., 2020; Behera et al., 2022; Cerrutti et al., 2016). Sin embargo, debe purificarse porque, durante la fermentación, se producen melanoidinas (Aditiawati et al., 2023). Por lo tanto, el biofilm debe someterse a un tratamiento físico o químico para su purificación y posterior caracterización (Abol-Fotouh et al., 2020; Sijabat et al., 2019). Los análisis realizados para la caracterización de NCB incluyen (i) análisis termogravimétrico (TGA), (ii) infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) y (iii) difracción de rayos X (XRD) (Dima et al., 2017; Gromovykh et al., 2017).

Los avances en la creación de biomateriales y biopolímeros están permitiendo una sustitución gradual de los plásticos derivados del petróleo. Esto se debe a que los biomateriales son renovables, amigables con el medio ambiente y biodegradables, ofreciendo una alternativa sostenible a los materiales tradicionales (Mahardika et al., 2023; Oliveira et al., 2007; Omran et al., 2021).

### **2.1.1. Aplicación de la nanocelulosa bacterial y almidón termoplástico como reemplazo parcial en material de empaque plástico**

Los materiales termoplásticos son ampliamente utilizados en la industria para la fabricación de una amplia gama de productos. El polietileno (PE), el polipropileno (PP) y el cloruro de polivinilo (PVC) representan casi el 60% de la producción europea de termoplásticos, alcanzando 57.9 millones de toneladas en 2019, lo que supone una disminución del 6.3% en comparación con 2018 (PlasticsEurope, 2020)(Cazón & Vázquez, 2021). No obstante, la producción mundial sigue en aumento, llegando a 368 millones de toneladas en 2019, un incremento del 2.5% respecto a 2018 (PlasticsEurope, 2020). Este crecimiento tiene un impacto directo en las emisiones globales de CO<sub>2</sub>, estimadas en 850 millones de toneladas en 2019, tanto por la producción como por la incineración de estos materiales (Arkin et al., 2019). La fase de obtención de termoplásticos puede generar más del 50% del impacto total del producto, seguida por el proceso de fabricación y su transporte (Choi et al., 2018; Dormer et al., 2013). Por esta razón, es crucial optimizar los productos fabricados con termoplásticos desde la etapa de diseño, ya que esta fase puede determinar hasta el 80% de sus impactos ambientales (How to Do Eco, 2000).

Una estrategia eficaz para reducir la cantidad de material virgen sin comprometer la funcionalidad del producto es la incorporación de materiales con menor impacto, la introducción de agentes aligerantes o la optimización del producto mediante refuerzos (Fitzgerald et al., 2021; Omran et al., 2021). En este sentido, las fibras naturales de origen vegetal y animal han sido objeto de amplia exploración en las últimas dos décadas, ganando relevancia frente a sus contrapartes sintéticas debido a su

biodegradabilidad, renovabilidad, ligereza y superiores propiedades bioquímicas y de resistencia (Dunne et al., 2016). Específicamente, las fibras vegetales como el banano, la fibra de coco, el sisal, el yute, el kenaf y otras más, han sido investigadas para aplicaciones industriales (Abera et al., 2023; Alemdar & Sain, 2008; Haroni et al., 2021). La fibra de banano, en particular, destaca debido a la extensa producción mundial de esta fruta (Balda et al., 2021). Un estudio realizado por (Jumaidin et al., 2021) demostró que la incorporación del 40% de fibra de hoja de banano (FHB) en el almidón termoplástico de yuca mejora significativamente la resistencia, el módulo de tracción y flexión, así como la estabilidad térmica del material. Los análisis SEM y FT-IR confirmaron una distribución homogénea y una fuerte interacción intermolecular entre las fibras y la matriz.

Sin embargo, la búsqueda de alternativas a los plásticos convencionales ha llevado a numerosos estudios a explorar opciones más sostenibles (Alemdar & Sain, 2008; Jumaidin et al., 2021; Mohanty et al., 2000; Sharma et al., 2019). En este contexto, la celulosa sigue siendo el biopolímero más abundante, económico y antiguo conocido. Este material continúa siendo objeto de extensos desarrollos y aplicaciones en diversos campos (Mahardika et al., 2023; Sharma et al., 2019). En particular, la NCB destaca por sus propiedades extraordinarias, diferenciadas de otros polímeros a base de polisacáridos, lo que la hace especialmente atractiva para aplicaciones en la industria alimentaria (Cazón & Vázquez, 2021). El módulo elástico de las microfibrillas individuales de NCB, medido mediante microscopía de fuerza atómica, es de 78 GPa, significativamente superior al de las fibras naturales, cuyo módulo elástico es inferior a 30 GPa (Klemm et al., 2006; Mohanty et al., 2000; Sharma et al., 2019). Esta notable rigidez refuerza el potencial de la NCB en diversas aplicaciones industriales y tecnológicas.

Así mismo, el almidón termoplástico (TPS, en inglés), derivado del almidón natural mediante la incorporación de plastificantes y refuerzos, representa una de las alternativas más prometedoras para sustituir a los polímeros derivados del petróleo (Y. Zhang et al., 2014). Este material exhibe buenas propiedades mecánicas, resistencia al agua reducida, barrera a los gases, estabilidad térmica, baja densidad y bajo costo. Su capacidad para degradarse fácilmente en el suelo lo posiciona como una opción ecológica (Guo et al., 2021; Y. Zhang et al., 2014).

El proceso implica la plastificación de gránulos de almidón mediante calor, resultando en una fase continua viscosa de masa fundida. Esta fase puede ser procesada utilizando técnicas tradicionales como el moldeo por inyección y la extrusión para obtener productos de almidón termoplástico (Ghozali et al., 2024; Nwuzor et al., 2023). Diversos plastificantes como el glicerol, la bisformamida de etileno y la urea han sido empleados en combinación con almidón para la producción de compuestos de TPS (Abera

et al., 2023; El-Shall et al., 2023; Nwuzor et al., 2023).

Sin embargo, el TPS presenta algunos inconvenientes que limitan su uso generalizado, como su naturaleza hidrofílica y la baja resistencia al agua, la degradación de propiedades mecánicas bajo condiciones ambientales, la fragilidad en ausencia de plastificantes adecuados, y su tendencia a volverse blando y débil con la adición de plastificantes (Alemdar & Sain, 2008; Anjana et al., 2021; Mahardika et al., 2023; Nwuzor et al., 2023). Para abordar estos desafíos, se han realizado numerosos intentos combinando almidón con polímeros sintéticos (Jumaidin et al., 2021; Mahardika et al., 2023; Nwuzor et al., 2023; Yun et al., 2008). Actualmente se está pasando de los plásticos petroquímicos a los de base biológica (bioplásticos) (Bishop et al., 2021).

La optimización de los parámetros de producción es crucial para mejorar las propiedades del TPS. En este sentido, la Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) se ha utilizado efectivamente, incluyendo enfoques como el Diseño Compuesto Central (DCC), el Diseño Box-Behnken y el Diseño de Mezcla, entre otros, para optimizar múltiples variables simultáneamente y minimizar el tiempo de desarrollo (Ewulonu et al., 2020; Z. Liu et al., 2019; Oyeoka et al., 2021). Este enfoque permite obtener resultados óptimos de manera eficiente, superando las limitaciones del método experimental convencional.

### **2.1.2. Optimización estadística para el proceso de obtención de nanocelulosa bacterial y biopelícula**

El control y la optimización de las condiciones de producción y los medios son fundamentales para mejorar el rendimiento y reducir los costes de producción (Rahman et al., 2021). Tradicionalmente, el enfoque de una variable a la vez (OVAT, en inglés) ha sido ampliamente utilizado para optimizar la producción de NCB (Alemam et al., 2021). Sin embargo, debido a la intensiva mano de obra y los altos costos asociados, ha surgido un interés creciente en el uso de diseños numéricos estadísticos como una alternativa más eficiente y rentable (El-Gendi et al., 2022).

La optimización estadística permite obtener datos más precisos al considerar las interacciones entre los parámetros, facilitando la identificación de la influencia de múltiples factores sin necesidad de realizar experimentos extensivos (Ye et al., 2019). Entre los métodos estadísticos utilizados, la MSR destaca por su capacidad para evaluar la interacción de diferentes parámetros con un menor consumo de tiempo y recursos (Czyrski & Sznura, 2019). Para la implementación de MSR, es crucial seleccionar adecuadamente el rango de los parámetros, tarea facilitada por modelos estadísticos como el DCC, Box-

Behnken, Plackett-Burman y el método de Taguchi (Aytekin et al., 2016).

Un aspecto esencial en la optimización estadística es la capacidad de predecir la respuesta del proceso basada en los valores de las variables independientes, asegurando que las ecuaciones generadas sean estadísticamente significativas (Granato et al., 2014). Para ello, se requiere que el valor  $p$  esté por debajo de un umbral específico ( $\alpha$ ), y que el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) sea mayor a 0.70, explicando así más del 70% de la variabilidad de los datos. Además, se verifica la falta de ajuste del modelo, con un valor  $p$  mayor a 0.05 (Dwivedi & Sharma, 2015; Granato et al., 2014).

El proceso de optimización estadística implica tres pasos principales: primero, establecer el rango de las variables y desarrollar la matriz de diseño y el modelo; segundo, realizar los experimentos en el laboratorio, registrar los resultados y ajustarlos al modelo aplicado para determinar los niveles óptimos que maximicen la productividad; y tercero, validar computacionalmente los resultados esperados para asegurar la adecuación del modelo aplicado (Anusuya et al., 2020; Czyrski & Sznura, 2019; Mufidah et al., 2017). En la evaluación de la precisión y significancia de los resultados obtenidos mediante diseños estadísticos, se aplican comúnmente el análisis de varianza (ANOVA) y el análisis de regresión (Dwivedi & Sharma, 2015; Garcia M et al., 2012; T.-F. Zhang et al., 2011).

Los diseños estadísticos de optimización permiten determinar los valores óptimos de las variables clave para alcanzar las respuestas deseadas máximas. Entre estos diseños se incluyen el diseño Box-Behnken (DBB) y el DCC, ambos ampliamente utilizados en la MSR propuesta por Box & Behnken, (1960). donde los resultados de la optimización podrían ser analizados a través de gráficos de superficie (2 o 3 dimensionales) que representan el cambio en la respuesta ( $Y$ ), de acuerdo con los parámetros aplicados ( $X$ ). Los diseños de optimización se basan en modelos cuadráticos polinómicos, donde también se puede dilucidar la naturaleza de las interacciones de las variables y la implicación de estas en el rendimiento del proceso (Rahman et al., 2021). Para dos variables estudiadas, el modelo polinómico cuadrático representa una reacción de segundo orden como se observa en la ecuación (1):

$$Y = A + B_1X_1 + B_2X_2 + B_{12}X_1X_2 + B_{11}X_1^2 + B_{22}X_2^2 \quad (1)$$

Donde  $Y$  = respuesta del proceso,  $A$  = intersección del modelo (representa la respuesta ajustada en el punto central del diseño),  $X_1, X_2$  = variables estudiadas,  $B_1, B_2$  = coeficientes lineales;  $B_{12}$  = coeficientes de interacción cruzada; y  $B_{11}, B_{22}$  = coeficientes cuadráticos no lineales.

La integración del método OVAT con diseños estadísticos ha sido adoptada como una estrategia efectiva para optimizar medios de cultivo. Inicialmente, el enfoque OVAT se emplea para explorar las variables relevantes, y luego, los niveles óptimos de las variables identificadas se refinan aún más a

través de diseños estadísticos de optimización (El-Gendi et al., 2022).

La optimización de la producción de NCB mediante el diseño Box-Behnken ha demostrado ser efectiva al identificar las condiciones óptimas de cultivo que maximizan el rendimiento. En un estudio realizado por Farrag et al., (2019) se utilizó *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23.769 para optimizar la producción de NCB. Las variables analizadas incluyeron extracto de levadura, temperatura y tiempo de incubación. Las condiciones específicas de este estudio fueron manitol 25 g/L, extracto de levadura 13 g/L, etanol 7 mL/L, pH 7, tamaño del inóculo 7%, temperatura 26,3 °C y un tiempo de incubación de 12 días. Bajo estas condiciones, se obtuvo un rendimiento de 2.91 g/L durante 12 días de fermentación.

En otro estudio, Santoso et al., (2020) investigaron el efecto de la fructosa, peptona y pH en la producción de NCB utilizando *Komactobacter intermedius* (BCRC 910,677). Las condiciones específicas fueron fructosa 41 g/L, peptona 38 g/L, pH 5,2 y un tiempo de incubación de 6 días. Los resultados indicaron un rendimiento de 3.906 g/l durante 6 días de fermentación.

Por su parte, B. Zhu et al., (2021, pp. 6-5) emplearon *Komagataeibacter intermedius* 6-5 (aislado local) en un medio residual de pera bajo condiciones de cultivo estático a 30 °C. Las variables optimizadas fueron la concentración de glucosa, la concentración de ácido cítrico y la cantidad de inoculación, encontrándose que las condiciones óptimas eran glucosa 3,62%, ácido cítrico 0,45% y tamaño del inóculo 9,39%. Este estudio reportó un rendimiento de 11.54 g/L durante 7 días de fermentación. La elección de las variables y su interacción son fundamentales para la eficiencia del proceso. Además, la utilización de medios residuales y el ajuste preciso de nutrientes y condiciones de cultivo pueden mejorar significativamente la producción de NCB.

### **2.1.3. Análisis de ciclo de vida para la producción de nanocelulosa bacteriana y biopelículas a base de almidón termoplástico**

El ACV, estandarizado por las normas ISO 14040:2006 y 14044:2006, permite evaluar los aspectos ambientales y los impactos potenciales a lo largo del ciclo de vida de un producto (Chaparro-Garnica et al., 2022; Fitzgerald et al., 2021). Entre estos impactos, se destaca la huella de carbono, que cuantifica la contribución de un producto al calentamiento global en términos de CO<sub>2</sub> equivalente (Fitzgerald et al., 2021; Forte et al., 2021; Guerrero & Muñoz, 2018). Además, otros indicadores de impactos proporcionan una evaluación de impacto más amplia (Boschiero et al., 2016; Carvalho et al., 2019; Fitzgerald et al., 2021).

El ACV no solo facilita la evaluación ambiental de productos (Aragão et al., 2020; Bartek et al., 2021),

procesos (Kookos et al., 2019) y servicios (Boschiero et al., 2016), sino que también permite cuantificar el desempeño ambiental de alternativas de ecodiseño (de Araújo e Silva et al., 2020; Polverini, 2021).

Esto incluye la evaluación de la reducción de impactos ambientales mediante el uso de mayor cantidad de material reciclado (Dormer et al., 2013), la influencia del diseño de envases (Wu et al., 2013), el tipo de materiales utilizados (Górny et al., 2021), los efectos del transporte y la logística (Rosmiati, 2020; Rodríguez et al., 2020a), así como las opciones de reutilización y reciclaje (Agencia Europea de Medio Ambiente Waste Recycling, 2022; Rodríguez et al., 2020b). En la Tabla 6, se incluyen algunos estudios de ACV para la obtención de NCB.

**Tabla 6.** Estudios sobre análisis de ciclo de vida en la producción de nanocelulosa bacteriana

Software/método de evaluación	Unidad Funcional (UF)	Límites del sistema	Resultados	Referencia
CCalC2	1 kg de nanocelulosa bacteriana seco	De la cuna a la puerta	Medio HS: 573 kg CO <sub>2</sub> -eq/uf Brewer's Spent Grain (BSG) and Brewer's Spent Yeast (BSY) extracto acuoso BSGE:129 kg CO <sub>2</sub> -eq/UF BSGE+BSYE: 135 kg CO <sub>2</sub> -eq/UF	(Tsouko et al., 2023)
No indicado	1 kg de nanocelulosa bacteriana	Escala laboratorio	39 kg CO <sub>2</sub> -eq/UF	(Martínez et al., 2023)
GaBi Pro ReCiPe 2016 Midpoint (H)	1 kg de celulosa bacteriana (masa seca)	De la cuna a la puerta	33,49 kg CO <sub>2</sub> -eq/UF	(Forte et al., 2021)
ILCD 2011 Midpoint V1.05	1 kg de celulosa bacteriana (masa seca)	Escala laboratorio	13,10 kg CO <sub>2</sub> -eq/UF	(de Araújo e Silva et al., 2020)

Una perspectiva desde la cuna hasta la puerta es especialmente pertinente para materiales con diversas aplicaciones futuras, algunas aún en desarrollo completo. Los resultados del ACV desde la cuna hasta la puerta pueden ser utilizados en estudios posteriores de ACV desde la cuna hasta la tumba, especialmente cuando el material producido, como en este caso la NCB, forma parte de aplicaciones futuras adicionales (Arvidsson et al., 2015).

#### 2.1.4. Análisis tecnoeconómico

Las aplicaciones potenciales de los residuos lignocelulósicos del cultivo de banano pueden estimular significativamente la economía en regiones como Ecuador, donde se generan más de 400,000 toneladas anuales (Tarrés et al., 2017). Estos residuos representan una valiosa fuente de recursos naturales



sostenibles y de alto valor, capaces de diversificar la economía local y fomentar una transición hacia una economía circular alineada con los objetivos globales de cambio climático y transición energética (Guerrero et al., 2016; Lokko et al., 2018).

La NCB, como material natural, exhibe propiedades únicas y renovables que la hacen altamente promisorio para diversas aplicaciones industriales (Singhania et al., 2022). Sin embargo, la producción a gran escala de NCB enfrenta desafíos significativos debido a la limitada información sobre la viabilidad del proceso (Fernandes et al., 2020; Tsouko et al., 2023). Por lo tanto, es crucial realizar un análisis tecnoeconómico (TEA, siglas en inglés) detallado para evaluar su viabilidad económica (Penloglou et al., 2023).

El análisis técnico del proceso de producción industrial de NCB incluye un riguroso levantamiento bibliográfico, balance de materiales, estimación de recursos y optimización de requisitos (Behera et al., 2022; Penloglou et al., 2023). Paralelamente, el análisis económico abarca la estimación de costos operativos y de capital, así como el análisis de flujo de caja que considera ventas, impuestos, utilidad bruta y neta (Duque et al., 2015; Leal Silva et al., 2022; Martínez-Ruano et al., 2018).

Behera et al., (2022) realizaron un análisis de viabilidad tecno-económica utilizando el software SuperPro Designer v10 para una planta de producción de NCB a partir de kombucha, revelando una inversión estimada de USD 13.72 millones y costos operativos anuales de USD 3.8 millones. Este estudio indicó que los gastos asociados a instalaciones y mano de obra representaron el 89%, con un período de recuperación de 4.23 años, un retorno de la inversión del 23.64% y una tasa interna de retorno del 16.48%.

Por otra parte, Dourado et al., (2018) evaluaron la producción a gran escala de NCB utilizando melaza de desecho y un medio químicamente definido, proyectando una inversión de USD 13 millones para una instalación capaz de producir 504 toneladas anuales, con costos operativos anuales de USD 7.4 millones. Según sus hallazgos, estimaron un beneficio neto anual de USD 3.3 millones y un período de recuperación de inversión de cuatro años.

Además, Sundaram et al., (2023) destacaron la viabilidad económica del uso del medio glicerol-sesame seed meal hydrolysate (SSM) para la producción fermentativa de NCB, demostrando un alto rendimiento y productividad económicos. Reportaron un rendimiento económico (EY) de \$69.83 de NCB por dólar de nutriente y una productividad económica (EP) de \$6.98 de NCB por dólar de nutriente por día, valores superiores comparados con otros medios control, debido al aprovechamiento de compuestos nitrogenados de biomasa residual como fuente de nitrógeno.

Los ATEs subrayan que la producción a gran escala de NCB demanda una considerable inversión de capital (Kamal et al., 2022), donde la composición del medio de cultivo juega un papel crucial. Los costos asociados con las fuentes de carbono y nitrógeno representan aproximadamente el 30% del costo total de producción (Abol-Fotouh et al., 2020; Martínez et al., 2023), lo que destaca la importancia de optimizar estos aspectos para mejorar la viabilidad económica y la capacidad de producción industrial de NCB.

## **2.2. Objetivo general**

Revalorizar los residuos lignocelulósicos del banano para la obtención de nanocelulosa bacterial: desarrollo de empaques para uso agroindustrial y su análisis de ciclo de vida.

## **2.3. Objetivo específico 1**

Determinar el medio de cultivo óptimo de la *K. xylinus* utilizando como fuente de carbono los residuos lignocelulósicos del banano, raquis y hoja, para la obtención de la nanocelulosa bacterial.

## **2.4. Objetivo específico 2**

Emplear la nanocelulosa bacterial como reemplazo parcial de material de empaque.

## **2.5. Objetivo específico 3**

Cuantificar el desempeño ambiental de la nanocelulosa bacterial como reemplazo parcial de material de empaque a lo largo de su ciclo de vida.

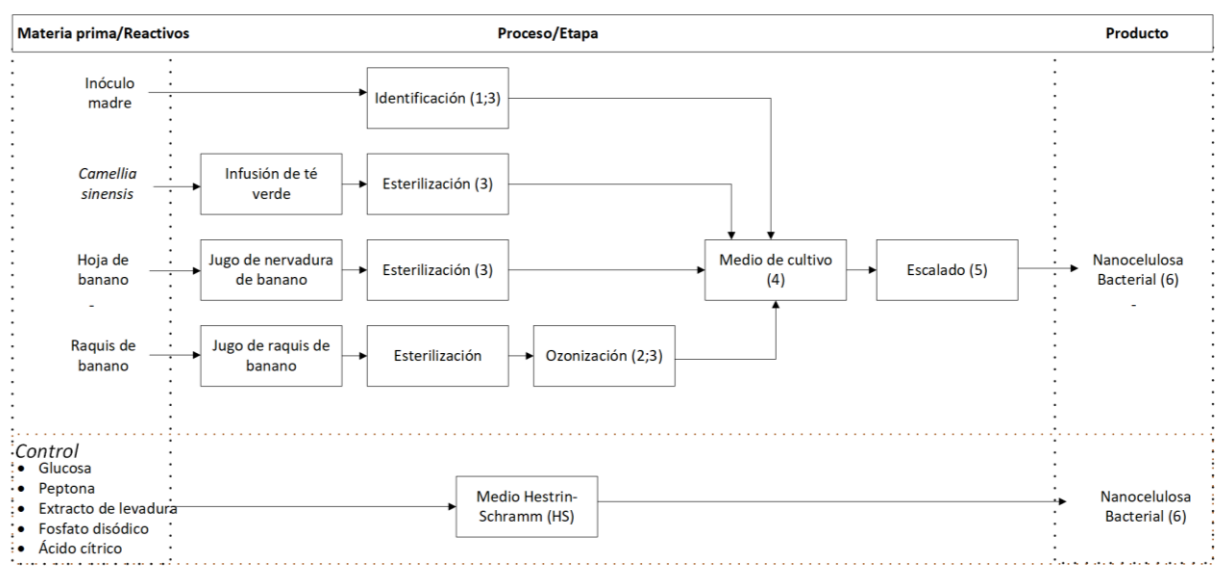
## **2.6. Objetivo específico 4**

Analizar el uso de nanocelulosa bacterial como soporte para la implementación de la economía circular en la cadena de valor del banano.

## CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1. Determinación del medio de cultivo óptimo de la *K. xylinus* utilizando como fuente de carbono los residuos lignocelulósicos del banano, raquis y hoja, para la obtención de la nanocelulosa bacterial.

La búsqueda de alternativas sostenibles y eficientes para la producción de nanocelulosa bacteriana ha impulsado el interés en el uso de residuos lignocelulósicos, particularmente aquellos derivados del banano, como fuentes de carbono. Entre estos, el raquis y la hoja de banano representan materiales abundantes y subutilizados que podrían proporcionar una solución viable y económica para la fermentación de *Komagataeibacter*. Esta sección se enfoca en la optimización del medio de cultivo para la producción de NCB utilizando estos residuos lignocelulósicos. La Figura 4 ilustra las etapas clave del procedimiento experimental mediante un diagrama de proceso.



**Figura 4.** Diagrama de proceso del objetivo específico 1. Las etapas numeradas describen los procedimientos realizados para cumplir este objetivo específico: (1) Identificación de las especies microbianas mediante métodos bioquímicos y secuenciación de nueva generación (NGS) del genoma microbiano; (2) Evaluación del impacto de la ozonización del jugo de raquis de banano en la producción de nanocelulosa bacteriana; (3) Caracterización fisicoquímica del jugo de hoja de banano, el inóculo madre, la infusión de té verde y el jugo de raquis de banano; (4) Optimización del medio de cultivo mediante el método de Box-Behnken; (5) Parámetros fisicoquímicos y del rendimiento en la producción de nanocelulosa bacteriana en un medio optimizado, escalado a 20 litros, y (6) Caracterización fisicoquímica de la nanocelulosa bacteriana mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), análisis termogravimétrico (TGA) y difracción de rayos X (XRD).

A continuación, se describen en detalle los materiales y métodos empleados para llevar a cabo cada una de estas etapas, proporcionando una base sólida para la reproducción y verificación de los resultados obtenidos.

### **3.1.1. Recolección y preparación de muestras vegetales**

Las hojas y raquis de banano, junto con bananos de rechazo, se recolectaron de una plantación de cultivo orgánico del subgrupo Cavendish (*Musa acuminata*) ubicada en el recinto Tres Postes (-1.983744822954974, -79.6114196251947), en la provincia de Guayas, Ecuador, según el Sistema de Posicionamiento Global (GPS). Se seleccionaron treinta hojas y raquis de banano, procurando elegir muestras sin síntomas de necrosis, clorosis o perforaciones de insectos, y en el caso de las hojas, completamente expandidas desde la tercera capa desde la parte superior en plantas en la etapa de cosecha. Las muestras fueron codificadas y transportadas en bolsas plásticas al laboratorio. Además, se recolectaron 5 kg de bananos de rechazo en grados de madurez 1 a 3, utilizando la escala de Von Loesecke (Céspedes et al., 2011; Souza et al., 2024).

Las hojas y raquis se lavaron con abundante agua y esponjas para eliminar el polvo, materia orgánica y residuos, y luego se dejaron secar al sol durante dos horas para su posterior procesamiento. Para obtener el jugo de las hojas y raquis, se pasaron tres veces por un molino denominado "trapiche", compuesto por tres rodillos que presionan las muestras, similar al equipo utilizado para extraer jugo de caña de azúcar. Entre cada submuestra, el trapiche se lavó con abundante agua corriente para evitar la contaminación cruzada. El jugo extraído se recolectó en vasos de precipitados de 2,000 mL, se etiquetó y se almacenó a 4 °C, siguiendo la metodología descrita por Fiallos-Cárdenas et al., (2021).

Las muestras de jugo se centrifugaron a 3,500 RPM durante 35 minutos a -4 °C, utilizando una centrífuga (Thermo Scientific Sorvall ST 16R, Dreieich, Alemania). Los jugos obtenidos se pasteurizaron por separado a 121 °C durante 15 minutos y se almacenaron en frascos de vidrio ámbar a 4 °C para su análisis posterior. En cuanto a los bananos de rechazo, se utilizó únicamente la cáscara para la preparación del polvo de cáscara de banano. Primero, las cáscaras se lavaron y se secaron en una estufa a 50 °C hasta alcanzar un peso constante. Posteriormente, se trituraron para obtener el polvo. El polvo de cáscara de banano obtenido se almacenó en fundas plásticas con cierre hermético, y estas fundas se guardaron en un secador con sílica gel para su preservación.

La hoja de té verde (*Camellia sinensis*) utilizada en esta investigación se adquirió de una empresa local de procesamiento de té y se preparó mediante métodos convencionales. El té verde se preparó sumergiendo bolsas de té en agua destilada calentada a 95 °C, utilizando una proporción de 10 g de hojas de té verde por litro. La infusión se removió durante 5 minutos, después de lo cual se retiraron las

bolsas y se mantuvo a 37 °C en un baño de agua (NTT-20S; EYELA, Tokio, Japón) hasta su uso, según la metodología de Dáger-López et al., (2024). Al finalizar esta se tenían los jugos de hojas (JHB) y de raquis (JRB) de banano, así como una infusión de té para la formulación de diversos medios de fermentación y análisis posteriores.

### **3.1.2. Análisis de identificación mediante métodos bioquímicos y secuenciación de nueva generación (NGS)**

Se recolectaron 50 mL del cultivo madre de SCOBY, obtenido de un cultivo mantenido en condiciones controladas en la Universidad Estatal de Milagro, conforme a las metodologías descritas por (Zailani & Adnan, 2022). El cultivo fue centrifugado a 4 °C a 3000 rpm durante 20 minutos. Los sobrenadantes se descartaron y los gránulos obtenidos se utilizaron para la extracción de ADN. Los gránulos se resuspendieron en 1 mL de solución tampón de lisis y el ADN total se extrajo utilizando el kit comercial ZymoBIOMICS DNA Kits a base de columnas (Zymo Research Corporation, EE. UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante. La concentración y calidad del ADN extraído se evaluaron mediante el índice  $DO_{260nm}/OD_{280nm}$  (1,8-2,0) usando un espectrofotómetro NanoDrop 2000 (Thermo Scientific, EE. UU.) y electroforesis en gel de agarosa al 1%.

La secuenciación de alto rendimiento se llevó a cabo en la plataforma Illumina MiSeq (San Diego, CA, EE. UU.) proporcionada por Majorbio Bio-Pharm Technology Co., Ltd. (Shanghái, China). Para cada muestra, el ADN se fragmentó en fragmentos de aproximadamente 600 pb utilizando un ultrasonido M220 Focused (Covaris Inc., EE. UU.). Las librerías se equilibraron en concentración en un pool final de todas las muestras. Los archivos Fastq fueron sometidos a un proceso de control de calidad y filtrado para garantizar la correcta clasificación taxonómica. Para la clasificación taxonómica, se utilizó un algoritmo de alto rendimiento de la base de datos de CosmosID, conocido por su alta precisión en la identificación de microorganismos en muestras metagenómicas. Al finalizar se realizaron análisis clásicos de riqueza y abundancia del complejo de especies presentes en el inóculo usado en todos los experimentos de esta tesis.

Conociendo la prevalencia de *K. xylinus* como productor de NCB, se aislaron las colonias individuales a partir de los gránulos obtenidos tras la centrifugación inicial descrita previamente en este acápite. Las colonias fueron seleccionadas presumiblemente en base a su color, siendo blancas transparentes al disolver el  $CaCO_3$  del agar Acetobacter Acetigenes Bacteria (AAB). Posteriormente, las colonias aisladas fueron cultivadas y purificadas en medio HS (Hestrin-Schramm) específico para el

género *Komagataeibacter*, que contiene glucosa ( $20\text{gl}^{-1}$ ), peptona ( $5\text{gl}^{-1}$ ), extracto de levadura ( $5\text{gl}^{-1}$ ), fosfato dipotásico ( $2.7\text{gl}^{-1}$ ) y ácido cítrico ( $2.7\text{gl}^{-1}$ ) (Hestrin & Schramm, 1954). Los cultivo fueron incubados durante 48 h ( $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , en condiciones aeróbicas). Las colonias aisladas y purificadas se sometieron a una serie de pruebas bioquímicas para la caracterización de las capacidades funcionales de la especie (X. Liu et al., 2023; Mishra et al., 2022).

La tinción de Gram se realizó para determinar la naturaleza de la pared celular de las bacterias. La producción de catalasa se evaluó colocando una gota de peróxido de hidrógeno sobre las colonias y observando la formación de burbujas. La prueba de oxidasa se llevó a cabo utilizando discos de oxidasa impregnados con reactivo tetrametil-p-fenilendiamina. La producción de indol se evaluó cultivando las bacterias en un medio que contiene triptófano y posteriormente añadiendo reactivo de Kovac para observar el desarrollo de un anillo rojo en la parte superior del medio (Mishra et al., 2022; B. Zhu et al., 2021).

Para evaluar el crecimiento en presencia de ácido acético al 0.35% (pH 3.5), las colonias se inocularon en medio HS ajustado con ácido acético. Asimismo, el crecimiento con etanol al 3% (v/v) en presencia de ácido acético al 5% se evaluó mediante la adición de los compuestos mencionados al medio de cultivo. La necesidad de ácido acético para el crecimiento se determinó cultivando las bacterias en medio HS con y sin ácido acético. El crecimiento en presencia exclusiva de ácido acético, etanol y glucosa se evaluó inoculando las bacterias en un medio mínimo suplementado con estos compuestos. La capacidad de utilizar etanol como fuente de carbono se evaluó mediante el crecimiento en medio HS modificado con etanol como única fuente de carbono.

Finalmente, la producción de celulosa se determinó cultivando las colonias en medio HS y observando la formación de una película de celulosa en la superficie del medio tras la incubación. Caracterización fisicoquímica de diferentes fuentes de carbono y energía (jugo de nervadura de banano, la infusión de té verde y el jugo de raquis de banano) y del inóculo madre.

### **3.1.3. Caracterización Fisicoquímica y Evaluación de la Capacidad Antioxidante de Infusiones de Té Verde, Jugo de Hoja y Raquis de Banano, e Inóculo Madre**

Se llevaron a cabo análisis detallados para caracterizar las propiedades fisicoquímicas y evaluar la capacidad antioxidante de diversas muestras, incluyendo infusiones de té verde, jugo de hoja de banano (JHB), jugo de raquis de banano (JRB) y el inóculo madre. La densidad de las soluciones se determinó utilizando un picnómetro a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Las mediciones de acidez se realizaron utilizando un medidor de pH

digital (APERA Instruments, LLC-PC60, USA, Columbus, OH, USA), previamente calibrado a valores de pH de 4.0 y 7.0. La concentración de sólidos solubles totales (°Brix) en el JHB a  $25 \pm 2$  °C se evaluó utilizando un refractómetro digital (Atago Co., Ltd., Tokio, Japón). Para analizar los azúcares reductores se empleó el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico, cuantificando la concentración de azúcares reductores mediante la curva estándar de D-glucosa (Miller, 2002). La conductividad eléctrica se determinó utilizando un multímetro portátil (HACH-HQ40D, Loveland, CO, EE. UU.).

El perfil cromático se evaluó mediante el sistema CIELAB, que implicó la medición de tres parámetros:  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ . El parámetro  $L^*$  refleja la luminosidad (que va de 0 para el negro a 100 para el blanco), mientras que  $a^*$  y  $b^*$  indican variaciones cromáticas entre tonos verde/rojo y azul/amarillo, respectivamente. Para estas mediciones se empleó un colorímetro de sobremesa Konica Minolta CR5 (Tokio, Japón).

Para evaluar la capacidad antioxidante, se realizó el ensayo de barrido de radicales DPPH con adaptaciones menores (X. Liu et al., 2023). Se preparó una mezcla de 100  $\mu$ L de la muestra y 1,9 mL de una solución de radicales DPPH diluida en metanol en una proporción de 1:1. Después de 30 min a temperatura ambiente y en la oscuridad (23-26 °C), se evaluó la capacidad de eliminación de radicales libres midiendo la absorbancia a 517 nm. Los resultados se expresaron como porcentajes medios de inhibición y se realizaron por triplicado para garantizar la fiabilidad de los datos.

Estos análisis proporcionan información crítica sobre las propiedades fisicoquímicas de los medios utilizados y su impacto potencial en la producción y calidad de NCB. Los datos obtenidos de los jugos de raquis y hoja de banano y otros medios contribuyen a una comprensión más profunda del proceso de producción de NCB y son fundamentales para su aplicación en bioplásticos y otros productos industriales.

#### **3.1.4. Evaluación del impacto de la ozonización del jugo de raquis de banano en la producción de nanocelulosa bacteriana**

En esta sección, se detalla la metodología utilizada para evaluar el impacto de la ozonización del jugo de raquis de banano en la producción de NCB. El proceso incluyó un cribado exhaustivo del jugo de raquis, en combinación con la infusión de té verde, para optimizar la producción de NCB. Este cribado se refiere a la evaluación sistemática y detallada de diferentes condiciones de ozonización para identificar las más efectivas en la mejora de la producción de NCB.

El JRB fue ozonizado durante distintos tiempos (0, 5, 20, y 30 minutos) utilizando un generador de ozono (OzonePlus™, Brazil). El ozono fue producido ajustando el tiempo de reacción del pretratamiento,

manteniendo constante la concentración de ozono en el rango de 600-615 mg/h. El pretratamiento se llevó a cabo a temperatura ambiente ( $30 \pm 2$  °C) y presión atmosférica (aprox. 1,02 atm). Para cada combinación de concentración y tiempo de ozonización, se prepararon muestras independientes. Posteriormente, cada muestra de jugo de raquis ozonizado se mezcló con la infusión de té verde y 10% de vinagre madres en proporciones de 25%, 50% y 75%. Se realizaron un total de 9 combinaciones para cada tiempo de ozonización, resultando en un total de 60 muestras diferentes por cada tiempo de evaluación. Se evaluaron los cambios en pH, turbidez, °Brix y rendimiento en la producción de NCB durante 7 días. Las muestras fueron incubadas bajo condiciones controladas de temperatura (30°C) y humedad, garantizando así la reproducibilidad y consistencia de los resultados obtenidos.

La ozonización del JRB es una etapa crucial para la producción de NCB, ya que el ozono actúa como un agente oxidante que puede modificar las propiedades fisicoquímicas del jugo (Mostashari et al., 2022). Este proceso tiene el potencial de mejorar la calidad del medio de cultivo al descomponer compuestos indeseables y aumentar la disponibilidad de nutrientes esenciales para los microorganismos productores de NCB. La ozonización puede influir en la viscosidad, la concentración de sólidos solubles y otros parámetros importantes que afectan la eficiencia de la fermentación.

### **3.1.5. Optimización de la producción de NCB utilizando el método de Box-Behnken a escala 0.1 litros**

Basándose en estudios previos, se identificaron tres variables independientes que podrían influir en el rendimiento de la nanocelulosa bacteriana (NCB): i) la fuente de carbono ( jugo de raquis y hojas de banano); ii) la concentración de esta fuente de carbono; y iii) el tiempo de fermentación (Dáger-López et al., 2024; Fiallos-Cárdenas et al., 2021). La composición de los medios fue la siguiente X de jugo, Y de té verde, y 10% de inóculo madre de SCOBY obtenido de la fuente descrita previamente. En estos experimentos se trabajó a escala 0.10 litros.

Para optimizar estos parámetros, se aplicó un diseño de optimización de superficie de respuesta utilizando el software Rstudio (versión 4.0.3) con el diseño de Box Behnken (BBD). Se llevaron a cabo un total de 20 experimentos factoriales BBD para explorar los efectos individuales y sinérgicos de las tres variables. Cada variable fue evaluada en tres niveles (-1, 0, +1), donde 0 representó el punto central y +1 y -1 indicaron valores altos y bajos, respectivamente. La respuesta evaluada (Y) fue el rendimiento de NCB, medido como peso seco después del proceso de liofilización, utilizando las siguientes variables independientes (X): X1 = composición de jugo de nervadura de banano, %p/p (JHB), X2 = jugo de raquis



de banano, %p/p (JRB), X3 = tiempo de fermentación (días).

Los datos experimentales se ajustaron mediante regresión a un polinomio cuadrático predictivo utilizando un algoritmo de optimización no lineal. Se generaron gráficos 3D para visualizar las interacciones entre las variables significativas y sus valores óptimos.

La producción de NCB se registró como peso seco después del proceso de liofilización. Para ello, las películas de nanocelulosa húmedas obtenidas se lavaron con NaOH 0.4 M a 80°C, seguido de un enjuague con agua destilada hasta alcanzar un pH neutro. Todos los experimentos se realizaron por triplicado para asegurar la reproducibilidad de los resultados. Es importante destacar que todas las muestras para estos experimentos fueron obtenidas del mismo lote de SCOBY. De este lote único, se prepararon tres frascos independientes para cada tipo de medio y concentración, lo que garantiza que las variaciones observadas en los resultados se deben a las condiciones experimentales y no a diferencias entre lotes de SCOBY.

Las películas de NCB purificadas se liofilizaron a -80 °C durante 24 horas y se pesaron (Dáger-López et al., 2024; Fiallos-Cárdenas et al., 2021; Segal et al., 1959). Finalmente, se analizaron los rendimientos de la producción de películas de NCB, liofilizadas a -80 °C y 0.008 mmHg durante 24 horas, utilizando un equipo Biosafer-10D (Biosafer Biotechnology Co., Ltd, Nanjing, Jiangsu, China). Los rendimientos se calcularon conforme a la ecuación (2):

$$\text{Rendimiento BNC \%} = \frac{W_d}{V(S_o - S_f)} \times 100\% \quad (2)$$

Donde  $W_d$  es la masa de NCB producida (g),  $V$  es el volumen de reacción (l),  $S_o$  es la concentración inicial de sustrato en el medio (g/l) y  $S_f$  es la concentración final de sustrato en el medio (g/l).

### **3.1.6. Determinación de los parámetros fisicoquímicos y del rendimiento en la producción de NCB en un medio optimizado a escala 10 l**

Los valores óptimos obtenidos previamente se utilizaron para escalar el proceso de producción a 10 litro de medio en condiciones estáticas a 30 °C. Se evaluó el pH, la turbidez y el rendimiento de NCB en base seca en varios momentos (0, 4, 7 y 14 días), siguiendo la metodología descrita por Dáger-López et al., (2024)

### **3.1.7. Caracterización estructural (microscopía electrónica de barrido, SEM) y fisicoquímica (espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, FTIR; análisis termogravimétrico, TGA; y difracción de rayos X, XRD) de la NCB**

**Microscopía electrónica de barrido (SEM):** Después de la fase de fermentación, la

NCB se sometió a un tratamiento con NaOH y agua destilada, seguido de un proceso de secado mediante liofilización a -80 °C utilizando el sistema FreeZone de 4,5 L (Labconco, Kansas City, MO, EE. UU.). Posteriormente, se realizó un análisis estructural de la NCB utilizando un microscopio electrónico de barrido FEI Inspect S SEM (FEI Company, Hillsboro, OR, EE.UU.). Durante la preparación de las imágenes SEM, la NCB seca se fijó y se recubrió con una fina capa de nanopartículas de oro. Las observaciones se realizaron con un aumento de 10.000× y una tensión de aceleración de 14,5 kV.

**Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR):** La estructura química de la NCB seca se determinó mediante FTIR. Los espectros se registraron utilizando la técnica de reflectancia total atenuada (ATR) en un espectrómetro Spectrum GX (PerkinElmer, Waltham, MA, EE. UU.) en el rango de 4000 a 500 cm<sup>-1</sup>. Se acumularon un total de 32 espectros con una resolución de 4 cm<sup>-1</sup>. Los datos espectrales se normalizaron y se sometieron a correcciones de fondo y de referencia. Posteriormente, se generaron representaciones gráficas utilizando el software OriginPro 9.0 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EE. UU.).

**Análisis termogravimétrico (TGA):** La estabilidad térmica de la NCB se determinó mediante la realización de TGA utilizando un Q-600 de TA Instruments con un analizador térmico DTA simultáneo. Las muestras de NCB se pesaron y se colocaron en una bandeja con un rango de peso de 2 a 5 mg. Las muestras se calentaron con nitrógeno de 25 °C a 1000 °C a una velocidad de calentamiento constante de 10 °C/min.

**Difracción de rayos X (XRD):** La NCB seca se molió hasta convertirlo en polvo para el análisis de difracción de rayos X. La muestra se analizó con radiación Cu-K $\alpha$  filtrada con níquel ( $\alpha = 0,15418$  nm). Los mapas de difracción se registraron a temperatura ambiente utilizando un difractómetro de rayos X PANalytical X'Pert, operando a 45 kV y 40 mA. El rango de  $2\theta$  fue de 5 a 80°, con una velocidad de escaneo de 0,01°/s. El índice de cristalinidad (Crl) de la NCB se determinó mediante la técnica de Segal et al., (1959), como se muestra en la ecuación (3).

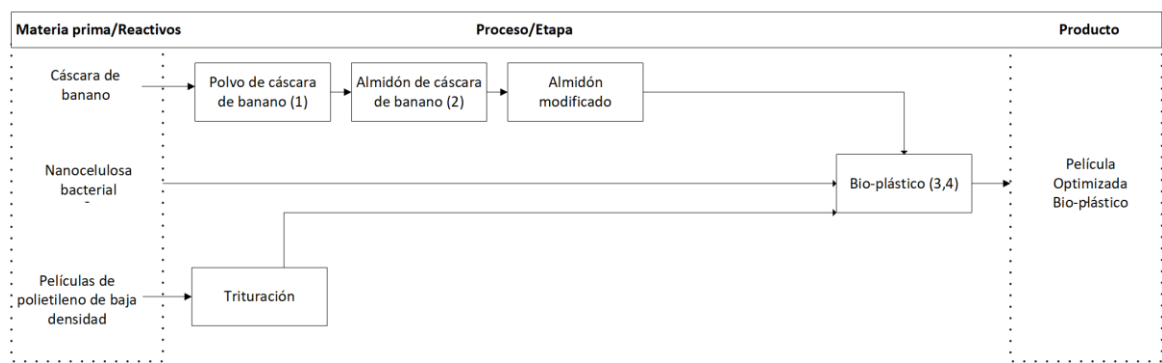
$$Crl(\%) = \frac{(I_{200} - I_{am})}{I_{200}} \times 100\% \quad (3)$$

Donde, *Crl* representa el índice de cristalinidad, *I<sub>am</sub>* representa la intensidad de difracción mínima en torno a  $2\theta = 18^\circ$ , e *I<sub>200</sub>* es la intensidad de difracción máxima de (002) difracción de red en torno a

$2\theta = 22,6^\circ$  (Mago et al., 2021).

### 3.2. Empleo de la nanocelulosa bacteriana como reemplazo parcial de material de empaque.

El desarrollo de materiales de empaque sostenibles ha cobrado una relevancia significativa en la industria, debido a la creciente preocupación por el impacto ambiental de los polímeros convencionales. En este contexto, la NCB ha emergido como un material prometedor debido a sus propiedades mecánicas excepcionales y su biodegradabilidad. Este estudio tiene como objetivo específico emplear la NCB como un reemplazo parcial en la fabricación de películas bioplásticas, evaluando su efectividad y desempeño como componente en estos materiales de empaque. La Figura 5 presenta un diagrama de proceso detallando las etapas principales y los análisis realizados en cada una de ellas.



**Figura 5.** Diagrama de proceso para objetivo específico 2. Las etapas numeradas indican los análisis realizados: (1) análisis proximal de la cáscara de banano; (2) caracterización del almidón extraído de la cáscara de banano; (3) diseño de mezclas para la obtención de películas de polietileno de baja densidad (PEBD), almidón de cáscara de banano (ACB) y nanocelulosa bacteriana; y (4) evaluación de las propiedades mecánicas de la película compuesta PEBD-ACB-NCB optimizada.

A continuación, se detallan los materiales y métodos utilizados en cada etapa del proceso, proporcionando una base metodológica sólida para la replicación y validación de los resultados obtenidos.

#### 3.2.1. Materiales y reactivos

Los almidones de maíz y yuca se obtuvieron de proveedores comerciales reconocidos, mientras que los reactivos utilizados, incluyendo ácido sulfúrico, hidróxido de sodio, yodo, glicerol, etanol, amilosa y yoduro de potasio, fueron adquiridos de la marca Sigma Aldrich.

#### 3.2.2. Análisis proximal de la cáscara de banano

El análisis proximal se realizó siguiendo los métodos estándar de la AOAC International (anteriormente conocida como la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales de los Estados Unidos), tal

como se describe en Helrich, (1990). Se determinaron diversos parámetros, entre ellos el contenido de humedad, proteína cruda, grasa bruta, fibra cruda, cenizas totales y extracto libre de nitrógeno (carbohidratos). Se realizó un triplicado para cada parámetro con el objetivo de garantizar la precisión de los resultados.

### **Determinación del contenido de humedad**

Se depositaron dos gramos de muestras frescas en un crisol previamente secado y pesado. Las muestras fueron sometidas a un proceso de secado por combustión en un horno a una temperatura constante de 105 °C hasta alcanzar un peso constante. Posteriormente, tras retirar las muestras del horno, se permitió que se enfriaran durante 60 minutos en un desecador antes de proceder a su pesaje nuevamente.

El contenido de humedad se determinó mediante el cálculo basado en la ecuación (4), que describe la pérdida de peso de la muestra original y se expresó como un porcentaje.

$$\text{Contenido de humedad (\%)} = \frac{W_1 - (W_2 - W_0)}{W_1} \times 100 \quad (4)$$

Donde W0= peso del crisol; W1= Peso de la muestra fresca (2g); y W2= peso del crisol y la muestra seca.

### **Determinación de proteína en base seca**

Para determinar el contenido de proteína en base seca, se empleó un analizador Kjeldahl para medir el contenido total de nitrógeno en la muestra. Este valor se convirtió en proteína bruta utilizando el factor 6,25, basado en la suposición de que la proteína media contiene aproximadamente un 16% de nitrógeno. Esta técnica analítica se divide en tres etapas fundamentales: (i) digestión, (ii) destilación y (iii) titulación. Para cada ensayo, se utilizó una muestra de 1,0 g. El contenido de proteínas en la muestra, expresado en base seca, se calcula mediante la ecuación (5).

$$P (\%) = (14.0)(F) \frac{(V_1 N_1 - V_2 N_2) - (V_3 N_1 - V_4 N_2)}{m(100 - H)} \quad (5)$$

Donde P= contenido de proteínas en porcentaje de masa; V<sub>1</sub>= volumen de la solución 0.1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, empleado para recoger el destilado de la muestra, en cm<sup>3</sup>; N<sub>1</sub>= normalidad de la solución de ácido sulfúrico; V<sub>2</sub>= volumen de la solución 0.1N de NaOH, empleado en la titulación, en cm<sup>3</sup>; N<sub>2</sub>= normalidad de la solución de NaOH; V<sub>3</sub>= volumen de la solución 0.1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, empleado para recoger el destilado del ensayo en blanco, en cm<sup>3</sup>; V<sub>4</sub>= volumen de la solución 0.1 N NaOH, empleado en la titulación del ensayo en blanco, en cm<sup>3</sup>; m= masa de la muestra en gramos; H= porcentaje de humedad en la muestra; y F=

factor para convertir el nitrógeno a proteínas (F=6.25).

### **Determinación de lípidos**

Para determinar el contenido de lípido crudo, se utilizó la técnica de extracción Soxhlet con éter de petróleo. Se tomaron 1,0 g de la muestra, los cuales se colocaron en dedales previamente pesados y se cubrieron con un fajo de algodón. Un vaso de extracción Soxhlet fue pesado y se le añadieron 100 mL de éter de petróleo por muestra. El proceso de extracción incluyó varios pasos: la muestra se hirvió durante 20 minutos, se enjuagó durante 35 minutos, se recuperó durante 10 minutos y se secó durante 5 minutos. Posteriormente, el vaso de extracción se retiró y se colocó en un horno a 105 °C durante 60 minutos para el secado. Después de este tiempo, el vaso se enfrió en desecadores. El contenido de lípidos crudos se determinó pesando nuevamente el vaso de extracción, y el resultado se calculó utilizando la ecuación (6).

$$\text{Contenido de lípidos crudo (\%)} = \frac{w_3 - w_1}{w_2} \times 100 \quad (6)$$

Donde w1= peso del contenedor; w2= peso de la muestra; y w3=lípidos y peso del contenedor.

### **Determinación total de cenizas**

El crisol de porcelana se secó en un horno a 105 °C durante 60 minutos y, posteriormente, se dejó enfriar en un desecador antes de ser pesado. Se colocó 1,0 g de la muestra en el crisol, que luego se introdujo en un horno de mufla ajustado a 550 °C y se dejó durante la noche. Tras la incineración, la muestra se retiró del horno, se enfrió en un desecador y se pesó nuevamente. El contenido total de cenizas se calculó utilizando la ecuación (7).

$$\text{Contenido de ceniza (\%)} = \frac{w_2 - w_0}{w_1} \times 100 \quad (7)$$

Donde w0=peso del crisol; w1=peso de la muestra; y w2=peso de la muestra de crisol y cenizas.

### **Determinación de fibra bruta**

Muestras secas y desgrasadas de 1,0 g se pesaron por triplicado en crisoles filtrantes limpios y previamente pesados. Los crisoles con las muestras se transfirieron a una unidad de extracción en caliente, donde se digirieron durante 30 minutos con 150 mL de una solución compuesta de ácido sulfúrico al 12,5% y 0,25 mL de octanol. Después de 30 minutos, se apagó el condensador y se dejó enfriar la solución. La solución ácida se filtró y se lavó con agua destilada caliente mediante succión.

Posteriormente, las muestras se digirieron durante otros 30 minutos con 150 mL de una solución alcalina (hidróxido de sodio al 12,5%) y 0,25 mL de octanol para disolver la materia soluble en álcali de

las muestras. Los crisoles de porcelana, junto con el residuo final, se secaron a 105 °C en un horno durante 60 minutos, se enfriaron en un desecador y luego se pesaron. La incineración del residuo se realizó en un horno de mufla precalentado a 550 °C durante 180 minutos. El porcentaje de contenido de fibra bruta se calculó utilizando la ecuación (8).

$$\text{Fibra cruda (\%)} = \frac{w_2 - w_3}{w_1} \times 100 \quad (8)$$

Donde  $w_1$ =peso de la muestra;  $w_2$ =crisol con peso residual; y  $w_3$ =crisol vacío con peso residual de cenizas.

### **Determinación del extracto libre de nitrógeno**

El extracto libre de nitrógeno (hidratos de carbono) se determinó utilizando la ecuación (9).

$$\text{Extracto libre de Nitrógeno} = 100 - (H + P + L + F + C) \quad (9)$$

Donde  $H$ = porcentaje de humedad;  $P$ = porcentaje de proteína;  $L$ = porcentaje de lípidos;  $F$ = porcentaje de fibra bruta, y  $C$ = porcentaje de cenizas.

### **3.2.3. Caracterización del almidón extraído de la cáscara de banano**

Para extraer almidón de la cáscara de banano, se siguió el siguiente procedimiento. Se tomó 15 g de cáscara de banano finamente pulverizada y se mezcló con 100 mL de etanol como disolvente. Esta mezcla se agitó durante 2 minutos y se dejó reposar en un agitador a temperatura ambiente durante 16 horas. Posteriormente, se filtraron las mezclas utilizando papel de filtro Whatman nº 1, recolectando los residuos filtrados para su posterior extracción de almidón. El filtrado resultante se centrifugó a 6000 rpm durante 10 minutos para eliminar los microrresiduos. Los extractos claros obtenidos se filtraron nuevamente con una membrana de 0,45 µm y se concentraron utilizando un evaporador rotativo. Finalmente, los extractos secos de cáscara de banano obtenidos con etanol se almacenaron a -20 °C para su análisis futuro.

Para la extracción del almidón, se preparó una mezcla de polvo de cáscara de banano y agua en una proporción de 1:5 (p/p), la cual se remojó a 30 °C durante 3 horas y luego se licuó durante 5 minutos. Esta mezcla se tamizó a través de un tamiz de malla 60 para separar el filtrado del residuo. El residuo recolectado se mezcló con 50 mL de etanol al 70% durante 5 minutos y se filtró nuevamente para separar el residuo. Los filtrados recolectados se centrifugaron a 11.000 rpm durante 15 minutos en la centrífuga (Thermo Scientific, EE. UU.). El sobrenadante se decantó y el precipitado resultante se mezcló con 100

ml de agua, filtrándose dos veces con una malla de 200 y papel de filtro Whatman (tamaño de poro de 2,5  $\mu\text{m}$  y n° 5). Además, se lavó consecutivamente con una solución de hidróxido de sodio 0,1 M y agua desionizada.

Finalmente, el residuo filtrado se secó en un liofilizador (Labconco, EE. UU.) y el almidón seco se almacenó a  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  para su análisis posterior. Para determinar el rendimiento en la obtención de almidón a partir de la cáscara de banano se utilizó la ecuación (10).

$$\text{Rendimiento (\%)} = \frac{\text{Masa de almidón extraído (g)}}{\text{Masa de muestra original (g)}} \times 100 \quad (10)$$

Se evaluaron las propiedades químicas del almidón de cáscara de banano, almidón de maíz y almidón de yuca, que serán utilizados para la obtención de bioplásticos. Los almidones de maíz y de yuca fueron adquiridos de una marca comercial. Las propiedades analizadas incluyen el pH, presencia de almidón, el contenido de humedad, el contenido de cenizas, y el contenido de amilosa.

### **Medición del pH**

Se mezclaron cinco gramos de muestra de almidón con 25 ml de agua destilada libre de  $\text{CO}_2$  durante 1 minuto, y se dejaron reposar durante 15 minutos. Posteriormente, se midió el pH de la mezcla utilizando un medidor de pH digital (APER Instruments, LLC-PC60, Columbus, OH, USA), previamente calibrado con soluciones de pH 4.0 y 7.0.

### **Determinación de presencia de almidón en las muestras**

Para la detección de almidones mediante la prueba de Lugol, se siguió el siguiente procedimiento. Inicialmente, se pesaron 5 gramos de la muestra de almidón y se depositaron en un vaso de precipitados limpio. Posteriormente, se añadieron 50 ml de agua destilada a la muestra y se agitó vigorosamente hasta lograr una suspensión homogénea.

La solución de Lugol se preparó disolviendo 1 gramo de yodo y 2 gramos de yoduro de potasio en 100 ml de agua destilada. Seguidamente, se agregaron 2-3 gotas de la solución de Lugol preparada a la suspensión de almidón. Se agitó cuidadosamente la mezcla para garantizar una distribución uniforme de la solución de Lugol. La aparición de un color violeta azulado en la mezcla indica la presencia de almidón en la muestra, ya que el yodo forma un complejo de color intenso con la amilosa presente en el almidón.

### **Contenido de humedad**

Se tomaron tres gramos de almidón y se colocaron en un crisol, el cual se introdujo en un horno a una temperatura constante de  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ , donde se secaron durante 24 horas hasta alcanzar un peso

constante. Posteriormente, se llevó a cabo la determinación del contenido de humedad en el almidón seco, manteniendo la muestra en el horno con control termostático a 105 °C durante el mismo periodo de tiempo. El peso seco de cada muestra se registró utilizando una balanza de precisión. Se estableció como criterio que el contenido de humedad del almidón debía ser inferior al 20%. Para calcular este contenido, se utilizó la ecuación (11).

$$\text{Contenido de humedad (\%)} = \frac{\text{Peso inicial} - \text{Peso final}}{\text{Peso inicial}} \times 100 \quad (11)$$

### **Determinación de contenido de cenizas**

Se procedió a calentar una muestra de 5 gramos de almidón a una temperatura de 550 °C, lo que provocó la descomposición y evaporación del compuesto orgánico y sus derivados, resultando en la formación de residuos de compuestos orgánicos y elementos minerales. Se estableció como criterio que el contenido de cenizas debía ser inferior al 1%. La determinación del contenido de cenizas se llevó a cabo mediante la aplicación de la ecuación (12).

$$\text{Contenido de cenizas (\%)} = \frac{w_2 - w_0}{w_1} \times 100 \quad (12)$$

Donde  $w_0$ = peso del crisol;  $w_1$ = peso inicial; y  $w_2$ = peso de la ceniza y crisol

### **Determinación del contenido de amilosa y amilopectina**

Se dispersaron 100 miligramos de amilosa en 1 mL de etanol absoluto, al que se le añadieron 9 mL de NaOH 1 M. La solución se sometió a calentamiento en un baño de agua hirviendo durante 15 minutos con agitación constante para obtener una solución clara; luego, se ajustó el volumen total a 100 mL con agua destilada para obtener la solución madre.

Para generar los espectros de absorción, se añadieron 4 mL de la solución madre de amilosa o 2.6 mL de la solución madre de amilopectina a 30 mL de agua destilada, y se ajustó el pH a 3.6 utilizando HCl 0.5 M. Posteriormente, se agregó 0.5 mL de solución de yodo-yoduro de potasio (I<sub>2</sub>-KI) (2 g/L I<sub>2</sub>, 20 g/L KI), y el volumen total se ajustó a 50 mL con agua destilada. La solución de reacción se mezcló y se dejó a temperatura ambiente durante 30 minutos, tras lo cual se escaneó utilizando un espectrofotómetro a longitudes de onda de 600 nm.

Para obtener la curva estándar de amilosa, la solución madre de amilosa se diluyó para obtener soluciones de reacción con concentraciones finales de 10 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL, 40 µg/mL, 50



$\mu\text{g/mL}$ ,  $60 \mu\text{g/mL}$  y  $70 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente. Basándose en esta curva de calibración estándar de amilosa, se determinó el valor máximo de amilosa presente en los almidones de cáscara de banano, maíz y yuca, utilizando la ecuación (13). El contenido de amilopectina se determinó mediante la ecuación (14). La cantidad de amilosa y amilopectina presentes en el almidón afecta las propiedades mecánicas del polímero de almidón, siendo el almidón con alto contenido de amilosa más rígido y duro que el almidón con alto contenido de amilopectina debido a sus estructuras comparativamente menos ramificadas.

$$\text{Contenido de amilosa (\%)} = 3.06 \times \text{absorbancia} \times 20 \quad (13)$$

$$\text{Contenido de amilopectina (\%)} = 100 - \text{Contenido de amilosa (\%)} \quad (14)$$

### 3.2.4. Optimización mediante diseño de mezcla simplex centroide para la producción de biopolímeros modificados con NCB

La metodología de superficie de respuesta empleó un diseño experimental de mezcla simplex-centroide para formular el medio. Este método se seleccionó por su capacidad para manejar múltiples componentes en un sistema de mezcla y evaluar sus interacciones de manera eficiente (Dias et al., 2014). A diferencia del diseño de Box-Behnken, utilizado anteriormente para explorar variables independientes en un rango más amplio, el diseño de mezcla simplex-centroide es particularmente adecuado para sistemas donde la combinación de ingredientes es fundamental (Jiao et al., 2018).

Este diseño considera  $2^q - 1$  combinaciones de mezclas, donde  $q$  representa el número de componentes del sistema, a saber, NCB, PEBD y almidón de cáscara de banano (ACB). Los factores representan la fracción de cada materia prima en la mezcla, variando de 0 a 1 sin restricciones en el espacio de diseño. En este contexto, el espacio factible para un experimento de mezcla de tres componentes se representa como un simplex, configurado geoméricamente como un triángulo. Cada mezcla en estudio varía según su ubicación dentro de esta región, siendo los vértices del simplex representativos de mezclas puras compuestas al 100% de un solo ingrediente (Neves et al., 2022; Rodrigues et al., 2019).

El modelo matemático empleado se define según la ecuación (15):

$$Y = \sum_{1 \leq i \leq q} \beta_i x_i + \sum_{1 \leq i < j \leq q} \beta_{ij} x_i x_j + \sum \beta_{123} x_1 x_2 x_3 \quad (15)$$

Donde  $Y$  denota la variable dependiente resistencia a la tracción, y  $X_1$ ,  $X_2$  y  $X_3$  corresponden a las variables independientes NCB, PEBD y ACB, respectivamente. Ver Tabla 7. La idoneidad del modelo se evaluó mediante indicadores como  $R^2$  ajustado,  $R^2$  y valor  $p$ . La modelización y optimización se llevaron a cabo utilizando el software RStudio (versión 4.0.3) con el apoyo de la librería MIXEXP (Lawson &

Willden, 2016).

**Tabla 7.** Variables y sus niveles para el diseño simplex centroide (DSC).

Variables	Niveles			
	0	0,33	0,5	1
X1: Nanocelulosa bacterial (%p/p)	5	23,33	32,5	60
X2: Almidón de cáscara de banano (%p/p)	5	23,33	32,5	60
X3: Polietileno de Baja Densidad (%p/p)	5	23,33	32,5	60

%p/p: Porcentaje peso/peso

La formulación restante tiene la siguiente composición constante: 27,50% de glicerina, utilizada como plastificante. Los plastificantes mejoran las características de procesamiento de los compuestos y proporcionan adaptabilidad al producto final. El glicerol, un biopolímero básico también conocido como glicerina o alcohol de azúcar, es inodoro e incoloro (Abera et al., 2023). Cuando las películas contienen menos del 20% de glicerol, es más probable que sean frágiles y pueden exhibir una textura y apariencia desiguales (Dou et al., 2016). 1% de ácido acético, empleado como conservante. El ácido acético ayuda a mantener alteradas las moléculas del almidón incluso después del calentamiento y actúa como disolvente del almidón (Kiran V et al., 2022; Samer et al., 2022). 1% de ácido esteárico, que sirve como agente de lubricación y estabilizador. El ácido esteárico mejora la dispersión de los componentes, facilita el proceso de extrusión, proporciona estabilidad térmica y aumenta la resistencia a la humedad (Y. Zhang et al., 2014). 0,50% de agua, utilizada como medio de dispersión para asegurar la integración homogénea de los componentes. El agua facilita la gelatinización del almidón y optimiza las propiedades mecánicas y estructurales del bioplástico (Kiran V et al., 2022).

La mezcla ternaria de NCB, PEBD y ACB, junto con el resto de los compuestos, se procesó en un reómetro de par Brabender® Plastograph® EC (Brabender GmbH & Co. KG, Alemania) de doble tornillo con un torque de 60 rev/min, a una temperatura inicial de 60°C durante 5 minutos, seguida de una temperatura de 120°C durante 10 minutos. Las muestras se dejaron enfriar y luego se tomaron 30 g de la muestra, que fueron prensados a 1500 psi durante 3 minutos y luego a 2000 psi durante 3 minutos a una temperatura constante de 110°C.

Previa a cada prueba de resistencia a la tracción, las muestras se acondicionaron durante 48 horas a una temperatura de 25°C, siguiendo el método de ensayo estándar (ISO 2418:2005 y ISO 2419:2005 para Muestreo y Acondicionamiento). Posteriormente, las muestras destinadas a la prueba de resistencia a la tracción se prepararon conforme a los estándares establecidos para láminas plásticas delgadas, según ASTM D882. Para la medición de la resistencia a la tracción, se empleó una célula de carga de 1 kN con una velocidad de desplazamiento de mordaza de 50 mm/min. Se procedió a cortar tiras de película

con dimensiones uniformes de ancho y grosor (10 mm × 50 mm) a partir de la lámina plástica preparada.

La resistencia a la tracción se determinó utilizando la ecuación (16):

$$\text{Resistencia a la tracción (MPa)} = \frac{\text{Fuerza (N)}}{\text{Área (anchura} \times \text{espesor) (mm}^2\text{)}} \quad (16)$$

### 3.2.5. Evaluación de las propiedades fisicoquímicas del bioplástico optimizado

**FTIR:** Los cambios químicos en la muestra de PEBD-TPSB-NCB optimizada fueron analizados mediante espectroscopía FTIR utilizando un espectrómetro PerkinElmer Spectrum One (PerkinElmer Inc., Washington, EE. UU.) equipado con un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR). Los espectros se registraron antes y después del proceso de degradación plástica mixta, empleando una resolución espectral de 4 cm<sup>-1</sup>, y adquiriendo 20 exploraciones por espectro en el rango de 4000–400 cm<sup>-1</sup>, y aire como fondo a temperatura ambiente.

**TGA:** La estabilidad térmica del PEBD y del bioplástico se determinó mediante la realización de TGA utilizando un Q-600 de TA Instruments con un analizador térmico DTA simultáneo. Las muestras de PEBD y bioplástico se pesaron y se colocaron en una bandeja con un rango de peso de 2 a 5 mg. Las muestras se calentaron con nitrógeno de 25 °C a 1000 °C a una velocidad de calentamiento constante de 10 °C/min.

**SEM:** La morfología de las películas plásticas mixtas se analizó mediante imágenes SEM obtenidas utilizando un Tescan Mira XMU (Tescan™, Brno, República Checa) en modo de electrones retrodispersados para el análisis de superficies, con una tensión de aceleración de 9 kV. Antes del análisis, las muestras analizadas se colocaron en trozos de aluminio individuales y se pulverizaron con una fina capa de oro utilizando una pulverización catódica Baltec SCD 005 durante 110 s al vacío a 0,1 mbar.

### 3.3. Cuantificación del desempeño ambiental de la nanocelulosa bacteriana como reemplazo parcial de material de empaque a lo largo de su ciclo de vida.

La Norma Internacional ISO 14040:2006 utilizada para este trabajo especifica las cuatro fases que componen un ACV típico, comenzando con la definición del objetivo y alcance, seguido de un análisis de inventario, continuando con la evaluación de impacto, y terminando con la interpretación de los resultados (ISO, 2006).

#### 3.3.1. Objetivo y alcance

## **Unidad funcional**

En este ACV, la unidad funcional se define como 1 kg de película plástica. El objetivo es cuantificar la huella de carbono de una película plástica en tres escenarios distintos:

Escenario A: Película de polietileno de baja densidad (PEBD) 100% origen fósil.

Escenarios B: Película plástica a base de nanocelulosa bacteriana, almidón de cáscara de banana y PEBD (sin aprovechamiento del bagazo residual).

Escenario C: Película plástica a base de nanocelulosa bacteriana, almidón de cáscara de banana y PEBD (con aprovechamiento del bagazo residual).

### **3.3.2. Análisis del inventario de ciclo de vida**

Se detallan los procesos involucrados en la preparación y producción de los materiales plásticos para cada escenario. En los Escenarios B y C, se utilizaron datos obtenidos de la optimización del medio de cultivo mediante el diseño Box-Behnken (Objetivo Específico 1). El inóculo se preparó en un fermentador de semillas durante 14 días a 30°C, y posteriormente se transfirió a una unidad de fermentación estática para facilitar la formación de la biopelícula de NCB.

El caldo líquido, que contiene azúcares, bacterias prebióticas y levaduras osmófilas, se separó en la corriente superior de la unidad de fermentación estática y puede comercializarse como análogo al té Kombucha, una bebida saludable que estimula el metabolismo digestivo y aumenta la inmunidad (Dima et al., 2017; Kapp & Sumner, 2019; Pradhan et al., 2023). La biopelícula de celulosa formada se pasó a un filtro de banda y se blanqueó con una solución de hidróxido de sodio 0.4 M para eliminar los azúcares residuales, las células microbianas y otros contaminantes. Posteriormente, la biopelícula de celulosa se secó en un secador de bandejas a 60°C y se extruyó en forma de filamento, el cual puede comercializarse directamente (Fiallos-Cárdenas et al., 2021; Rodrigues et al., 2019).

Para la formulación de la película plástica de base biológica, se utilizaron los resultados del diseño Simplex-Centroide (Objetivo Específico 2). A continuación, se describen los detalles de cada escenario:

#### **Escenario A: Película de PEBD 100% origen fósil**

El PEBD de origen fósil se ha modelado utilizando el inventario de Ecoinvent, (Ecoinvent, 2020), con ajustes específicos en la fuente energética, adaptando los datos originales a las condiciones de Ecuador (Ramírez et al., 2020). Este escenario sirve como referencia para evaluar la huella de carbono del polímero biológico frente a su contraparte fósil.

#### **Escenario B: Película optimizada con nanocelulosa bacteriana, almidón de cáscara de**

## banano y PEBD (Sin aprovechamiento del bagazo residual)

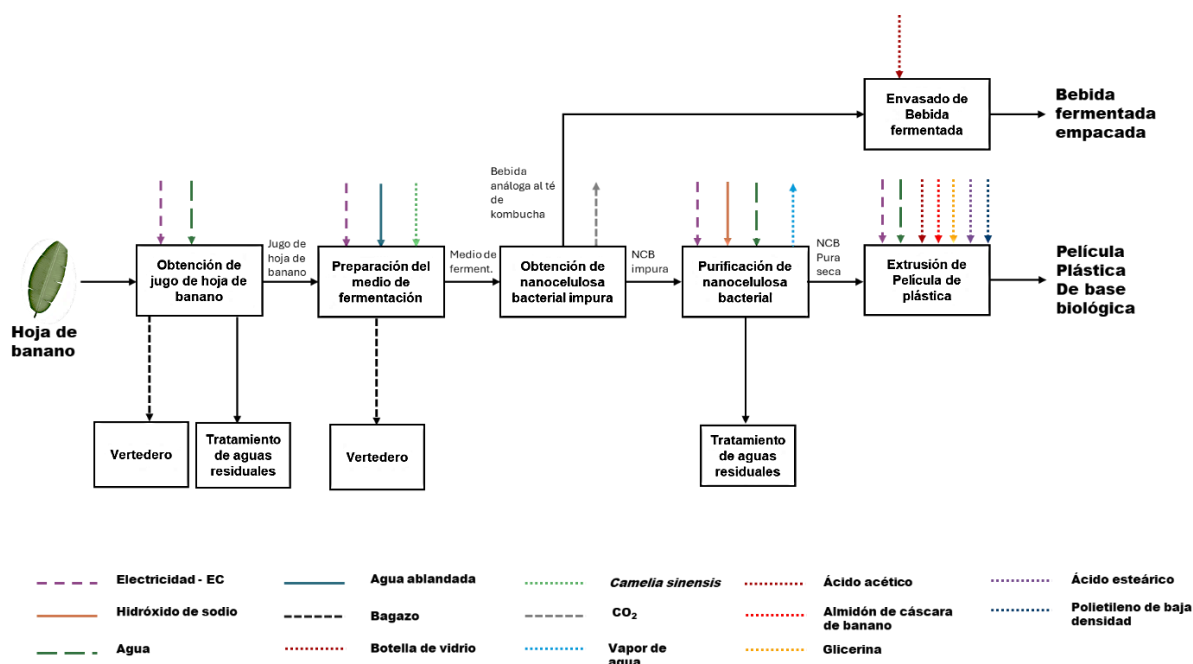
En el presente estudio, se han modelado específicamente varios procesos, mientras que otros se han tomado del inventario de Ecoinvent (Ecoinvent, 2020), con las adaptaciones necesarias para las condiciones de Ecuador. A continuación, se detallan los procesos modelados en este trabajo de investigación:

Entre los procesos modelados se incluye la producción de JHB, que abarca el lavado, trituración, clarificación y filtrado de hojas de banano. Además, se ha modelado la producción del medio de fermentación, que consiste en la preparación de una infusión de té verde, su mezcla con JHB y la posterior pasteurización.

Otro proceso modelado es la producción de NCB impura, que incluye la fermentación estática, la separación del caldo líquido y la obtención de la biopelícula. La purificación de la NCB, que implica el lavado, secado y blanqueo con hidróxido de sodio, también ha sido modelada, así como la producción de 1 kg de NCB pura.

Adicionalmente, se ha modelado la producción de la bebida fermentada análoga al té de kombucha, que incluye el embotellado en botellas de vidrio. Finalmente, se ha abordado la producción de ACB, que comprende la extracción, purificación y secado del almidón.

Los detalles cuantificados de estos procesos se presentan en el apéndice F, y la representación del flujo del proceso con el límite del sistema se muestra en la Figura 6.

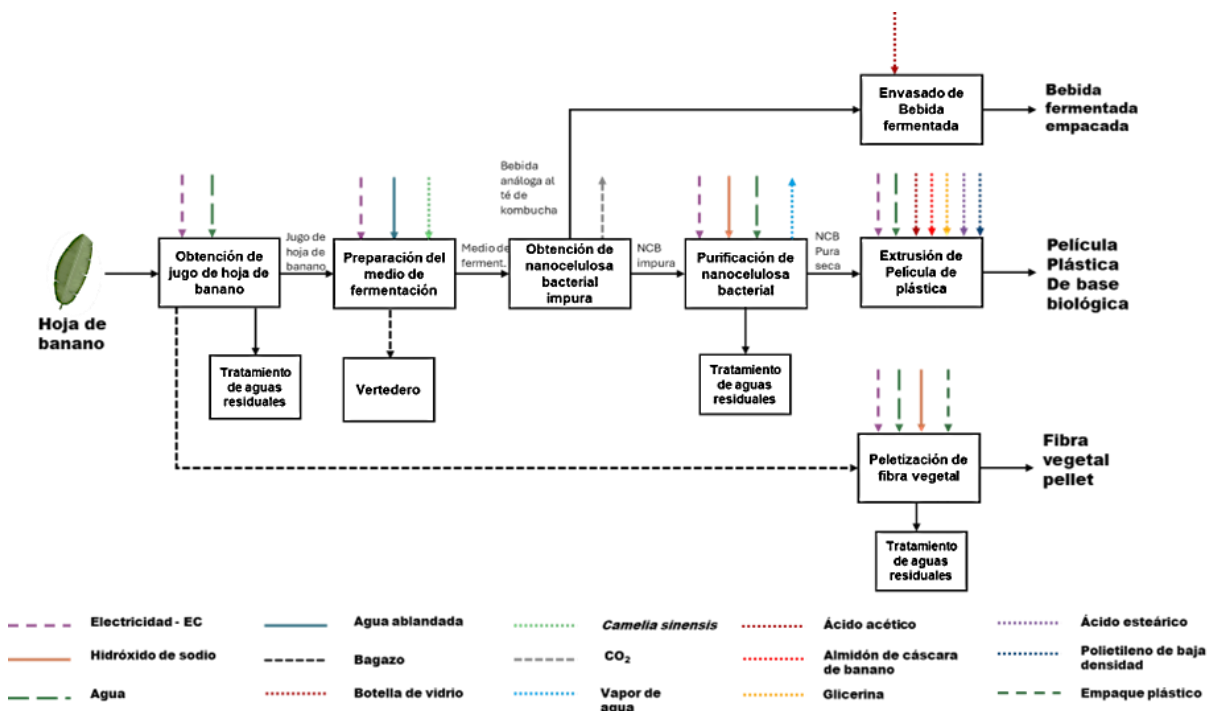


**Figura 6.** Escenario B. Biorrefinería para la producción de nanocelulosa bacteriana, almidón de cáscara de banano, bebida fermentada análoga al té de kombucha, sin aprovechamiento del bagazo residual.

Por otro lado, se han utilizado datos del inventario de Ecoinvent (Ecoinvent, 2020) para la producción de PEBD de origen fósil, adaptando estos datos a las condiciones energéticas de Ecuador (Ramirez et al., 2020). Adicionalmente, se han tomado datos bibliográficos para la huella de carbono de *Camellia sinensis* (Khanali et al., 2017).

**Escenario C: Película optimizada con nanocelulosa bacteriana, almidón de cáscara de banano y PEBD (Con aprovechamiento del bagazo residual)**

En este escenario, se han modelado siete etapas clave: (i) Obtención del JHB, que comprende lavado, trituración, clarificación y filtrado de las hojas; (ii) Preparación del Medio de Fermentación, que implica la preparación de una infusión de té verde mezclada con JHB, seguida de la pasteurización del medio; (iii) Purificación de la NCB, que incluye el lavado y secado de la celulosa; (iv) Producción de ACB, desde la extracción hasta la purificación y secado del almidón; (v) Empacado de la Bebida Fermentada, que abarca el embotellado de la bebida análoga al té Kombucha en vidrio; (vi) Empacado de la Fibra Vegetal del Banano, que incluye el triturado, secado, peletizado y empaque de la fibra. Los detalles cuantificados de estos procesos son los mismos que en el escenario B, con la diferencia que se aumenta el modelado de la etapa (vi) y la aplicación de un método de asignación física en el proceso (i). La Figura 7 ilustra el flujo del proceso.



**Figura 7.** Escenario C. Biorrefinería para la producción de nanocelulosa bacteriana, almidón de cáscara de banano, bebida fermentada análoga al té de kombucha, con aprovechamiento del bagazo residual

Las fibras naturales pueden ser un sucedáneo adecuado con las fibras sintéticas (Jumaidin et al., 2021; ONU, 2023). Las fibras naturales se utilizan en diferentes formas en compuestos de polímeros

reforzados con fibra, como continuos, orientados al azar y como esteras de tela tejida (Alavudeen et al., 2015; Mohamed et al., 2022). Se ha demostrado que las propiedades físicas y mecánicas de tableros a base de fibra de hoja de banano son superiores a las de tableros de fibra de densidad media (MDF) comercial. Este tipo de tableros cumplen con las normativas y pueden ser una buena fuente de materia prima para las industrias de MDF (Rashid et al., 2014). Se espera que el mercado de compuestos de fibras naturales crezca de 4.438,83 millones de dólares en 2022 a 6.910,46 millones de dólares en 2028; Se estima que registrará una tasa de crecimiento anual compuesta (CAGR) del 7,7% de 2022 a 2028 (The Insight Partners, 2022). Se empleo datos del inventario de Ecoinvent (Ecoinvent, 2020) ajustados para Ecuador (Ramirez et al., 2020).

### **3.3.3. Evaluación de impacto de ciclo de vida**

El análisis de impacto se llevó a cabo utilizando el método Recipe Midpoint (H) V1.13, uno de los métodos predominantes en estudios actuales de ACV (Aliakbarian et al., 2024; Deng et al., 2013; Oleksiak & Poloczek, 2024). La categoría evaluada fue el potencial de calentamiento global (GWP100), debido a que el cambio climático es uno de los mayores retos ambientales contemporáneos. Este enfoque es esencial para cuantificar el impacto climático de los bioplásticos en comparación con materiales tradicionales, dado que el calentamiento global tiene repercusiones globales significativas. La descarbonización se ha convertido en una necesidad imperiosa para mitigar el cambio climático. En este contexto, la biomasa emerge como una alternativa prometedora para diversos sectores industriales, incluyendo la producción de plásticos (Amin et al., 2019; Bishop et al., 2021; Zuraida et al., 2012)

El análisis de inventario y la evaluación de impactos se llevaron a cabo utilizando el software OpenLCA (Ciroth, 2007), asegurando una evaluación precisa del impacto ambiental.

### **3.3.4. Interpretación de resultados**

Para que el polímero de base biológica sea considerado adecuado desde una perspectiva de cambio climático, debe demostrar una huella de carbono inferior en comparación con su contraparte de origen fósil.

## **3.4. Análisis del uso de la nanocelulosa bacteriana como soporte para la implementación de la economía circular en la cadena de valor del banano en un contexto de bioeconomía circular**

### **3.4.1. Descripción de la simulación del proceso**

La vía del proceso que involucra la formación de bioplástico de base biológica, fibra vegetal y una

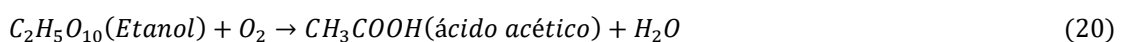
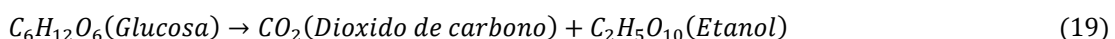
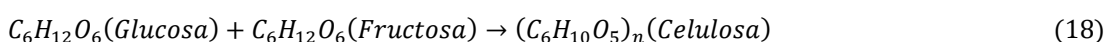
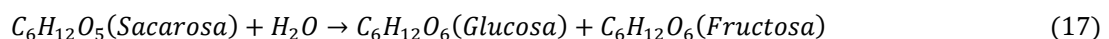
bebida análoga al té de kombucha se simuló como un proceso de siete etapas para estudiar la economía involucrada, utilizando BioSteam (REF) con los precios base del año 2022.

Inicialmente, el proceso consistió en la obtención del JHB y su mezcla con té verde para la preparación del medio de fermentación. La biomasa obtenida como bagazo se puede comercializar como fibra vegetal, proporcionando una fuente adicional de ingresos económicos. La preparación del inóculo se realizó en unidades fermentadoras de semillas con un volumen máximo de 250 litros y un volumen de trabajo de 182 litros.

Para satisfacer la demanda de producción según el caudal, la fermentación de la kombucha se llevó a cabo a 30°C en diez reactores estáticos en modo escalonado, cada uno con un rendimiento nominal de 1546 kg/h, promoviendo así la propagación de la biopelícula. La etapa de fermentación constituye el principal cuello de botella del proceso, ocupando el tiempo máximo por lote en comparación con otros equipos del proceso. Para optimizar el rendimiento, se simuló el proceso particular en modo escalonado. Se supone que el sistema funciona las 24 horas del día en un ciclo continuo de 24 horas, con un lote de fermentación iniciado y otro completado diariamente, teniendo un tiempo total de procesamiento de 14 días. Dourado et al., (2018) también informaron de reactores similares operados en sala limpia en modo escalonado para la producción de NCB.

La salida del fermentador estático se dirige a las unidades de procesamiento posteriores, que operan de manera continua. El caldo de fermentación de la unidad de fermentación estática se puede comercializar como un análogo al té de kombucha, proporcionando una fuente secundaria de ingresos económicos.

La unidad de fermentación estática implica una serie de reacciones basadas en el metabolismo inherente del SCOBY para convertir el azúcar (sacarosa) en celulosa y otros subproductos, como se describe en las Ecuaciones (17) a (20).



La NCB se procesa con un caudal volumétrico de 1 L/h y un rendimiento nominal de 7,58 kg/h para facilitar el blanqueo mediante tratamiento con NaOH 0,4 M. La NCB blanqueada resultante se seca a 60 °C en un secador de bandejas con un volumen de 1140 L, bandejas con una superficie de 5 m<sup>2</sup> y una distancia vertical de 20 cm entre cada bandeja. La biopelícula seca de NCB, junto con PEBD y ACB, se



pasa al dispositivo de extrusión, que cuenta con un diámetro de tornillo de 0,91 cm y una profundidad de dosificación de 6 mm, para formar filamentos de bioplástico.

### **3.4.2. Evaluación económica**

Los datos iniciales, que incluyen desde los costos de las materias primas hasta la cinética de reacción, establecen la base para simular la cantidad necesaria de equipos. Se detallan las unidades de cada equipo, el material utilizado, el tamaño y los costos de capital correspondientes a cada etapa del proceso de simulación del diseño. Los costos totales de capital comprenden el capital fijo directo, el capital circulante y los costos de puesta en marcha. El capital fijo directo abarca el costo del equipo, su instalación, tuberías, suministro eléctrico, mejoras en las instalaciones y otros gastos auxiliares. Los factores de cálculo se han establecido conforme a los estándares predeterminados (Behera et al., 2022).

Por otro lado, los costos operativos totales se derivan de la suma de los costos de materias primas, mano de obra, gastos de instalación y servicios públicos, incluyendo el costo de la electricidad consumida. Entre las materias primas figuran la mezcla de té (0,6 US\$/kg) e hidróxido de sodio (0,38 US\$/kg). En cuanto a los ingresos, estos se dividen en tres flujos principales: filamentos a base de celulosa de kombucha (la principal fuente de ingresos), bebida análoga al té de kombucha como flujo secundario y fibra vegetal de banano sin tratar. Se estima que la bebida de kombucha se comercializa a 8,70 US\$/kg (Mohd Ariff et al., 2023), mientras que los filamentos a base de celulosa de kombucha se venden a 1,63 US\$/kg (Behera et al., 2022; Penloglou et al., 2023), y la fibra de banano en formato de pellet tiene un precio aproximado de 4 US\$/kg (Balda et al., 2021; Fiberight, 2022; IMPADESA, 2016; Instituto Textil Nacional AC, 2019).

Para evaluar la rentabilidad del proceso simulado, se analizan parámetros como el precio mínimo de venta, los costos unitarios de producción, la utilidad bruta, la utilidad neta, el Valor Actual Neto (VAN), la Tasa Interna de Retorno (TIR), el período de recuperación y el Retorno de la Inversión (ROI) mediante un análisis de flujo de caja. Estos parámetros se calculan considerando un tiempo operativo de 330 días, una carga tributaria del 40%, una inflación del 4% y una tasa de interés del 7% (Penloglou et al., 2023).

### **3.4.3. Supuestos y limitaciones del modelo**

Se planificó que toda la instalación operaría durante 330 días al año, destinando los días restantes al mantenimiento de la planta. Se asumió que el bioproceso seguiría el enfoque del Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP) durante la fermentación de la kombucha, según Behera et al., (2022). Con un período de retención por lote de 14 días, se pueden ejecutar aproximadamente 23 lotes

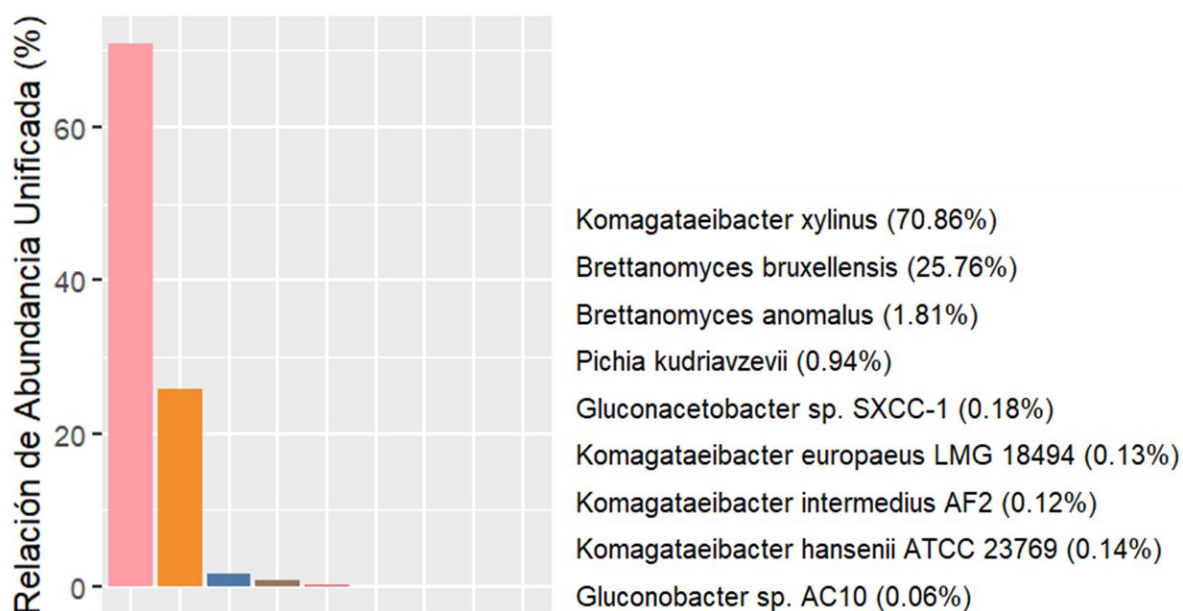
anuales. La utilidad neta del proceso se calculó considerando un 40% de impuestos, después de deducir los costos operativos de los ingresos totales.

## CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Determinación del medio de cultivo óptimo de la *K. xylinus* utilizando como fuente de carbono los residuos lignocelulósicos del banano, raquis y hoja, para la obtención de la nanocelulosa bacterial.

#### 4.1.1. Identificación mediante métodos bioquímicos y secuenciación de nueva generación (NGS)

El análisis metagenómico del inóculo madre reveló una comunidad microbiana diversa, destacando *Komagataeibacter xylinus* con una abundancia relativa significativa del 70.86% (Figura 8). Esta especie es reconocida por su capacidad para producir celulosa bacteriana, esencial en la estructura del SCOBY y la formación de biofilms. Otras especies identificadas, aunque en menor abundancia, incluyeron (*K. hansei*, y *K. intermedius*) aunque en menor abundancias. La alta prevalencia de *K. xylinus*, junto con un 76.27% de coincidencias únicas y un 72.30% de coincidencias totales, confirma su papel crucial en el consorcio microbiano.



**Figura 8.** Abundancia unificada de especies de bacterias y hongos a partir del consorcio microbiano (SCOBY) usado como inóculo para la obtención de nanocelulosa bacterial.

También se detectaron especies del género *Gluconacetobacter*, como *Gluconacetobacter* sp. SXCC-1 y *Gluconobacter* sp. AC10, conocidas por su capacidad para oxidar azúcares y producir ácidos orgánicos, influenciando potencialmente el pH del medio de cultivo.

En el reino Fungi, se observaron tres especies: *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces anomalus* y *Pichia kudriavzevii*. *Brettanomyces bruxellensis* fue especialmente prominente, representando el 25.76% de la abundancia relativa, lo cual sugiere su contribución a la producción de

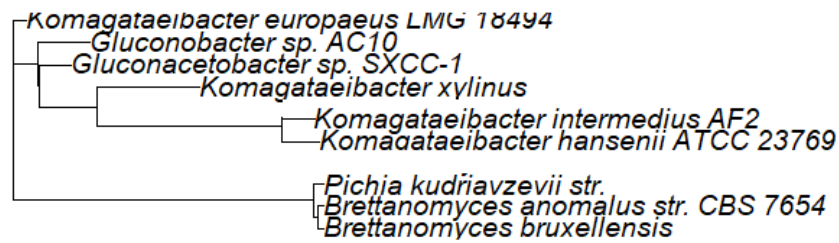
compuestos aromáticos y complejidad sensorial del té fermentado. La presencia de estos hongos también puede influir en la dinámica de competencia microbiana y en la supresión de microorganismos indeseables.

Vale destacar que *B. bruxellensis* mostró una abundancia alta (25%), desde la perspectiva ecológica significa que existe algún tipo de relación mutuamente benéfica entre ellos (Kilmanoglu et al., 2024)

Resultados similares fueron reportados por de Oliveira Duarte et al., (2024) quienes encontraron que el análisis taxonómico del SCOBY reveló la presencia de microorganismos pertenecientes a los reinos Fungi y Bacteria, incluyendo las familias Saccharomycetaceae y Acetobacteraceae. Entre las levaduras, se identificaron *B. bruxellensis* (47.23%), *Candida ethanolica* (52.76%) y *B. anomalus* (0.01%). Además de estas levaduras, se detectaron otras bacterias en cantidades menores, como *Lactobacillus nagelii*, *Oenococcus oeni*, *Alkalihalobacillus clausii* y *Komagataeibacter hansenii*, así como otras bacterias no identificadas (0.07%). Asimismo, se ha determinado que la kombucha contiene diversas bacterias, destacando *Komagataeibacter xylinus*, que representa un 93.38%, además de *Bacillus coagulans* y *Lactobacillus nagelii* (Hooi et al., 2023).

Es importante aclarar que, en este trabajo de investigación, el SCOBY se utiliza exclusivamente como inóculo para la producción de NCB. La estabilidad del SCOBY, que se refiere a su capacidad para mantener una comunidad microbiana equilibrada y productiva, es crucial para garantizar la producción constante y eficiente de NCB. Sin embargo, la estabilidad del SCOBY no debe confundirse con la estabilidad de la NCB, ya que esta última se refiere a las propiedades físicas y químicas del bioplástico resultante. La inclusión del análisis metagenómico del SCOBY proporciona una base científica para entender y optimizar el proceso de producción de NCB, asegurando que las condiciones microbianas sean adecuadas para obtener un material de alta calidad.

La ausencia de virus, protistas y fagos en las muestras analizadas indica un ambiente controlado y estable, enfocado en bacterias y hongos beneficiosos para la fermentación. La coexistencia de bacterias productoras de celulosa como *K. xylinus* y hongos como *B. bruxellensis* es fundamental para la estructura y mantenimiento del SCOBY, así como para la calidad final del té fermentado (Scapin et al., 2017). El árbol filogenético se muestra en la Figura 9.



**Figura 9.** Árbol filogenético de las especies

La selección de bacterias del inoculo se determinó en base a la formación de colonias blancas transparentes (*Komagataeibacter xylinus*) al disolver el  $\text{CaCO}_3$  en agar ácido acéticas (AAB). La caracterización bioquímica de *Komagataeibacter xylinus* (anteriormente conocido como *Acetobacter xylinum* y *Gluconacetobacter xylinus*) es fundamental para confirmar su identidad y comprender sus capacidades funcionales. A continuación, se presenta un análisis detallado de los resultados obtenidos, basado en los ensayos de caracterización descritos en la Tabla 8.

En primer lugar, se confirma que *K. xylinus* es una bacteria Gram-negativa, un rasgo común entre las bacterias acéticas que influye en las características estructurales de su célula, particularmente en la composición de la pared celular, que es delgada y contiene una capa de peptidoglicano rodeada por una membrana externa (Du et al., 2018; Lee et al., 2024).

La producción de catalasa es positiva, indicando la presencia de la enzima catalasa, la cual descompone el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno (Alemam et al., 2021). Este rasgo es distintivo de muchas bacterias aeróbicas y facultativamente anaeróbicas, permitiéndoles sobrevivir en entornos donde el peróxido de hidrógeno es un subproducto del metabolismo oxidativo (B. Zhu et al., 2021). En contraste, la prueba de oxidasa resultó negativa, lo que es congruente con la biología del género *Komagataeibacter*, que carece de la enzima citocromo c oxidasa. La ausencia de actividad oxidasa es un indicador crucial para diferenciar este microorganismo de otros que sí poseen esta enzima (Anguluri et al., 2022).

Además, la bacteria no produce indol, como se confirmó con un resultado negativo en esta prueba. La capacidad de producir indol, derivado de la descomposición del aminoácido triptófano, no es típica de esta especie, distinguiéndola de otros microorganismos que poseen la enzima triptofanasa (S.-P. Lin et al., 2016). Por otro lado, el crecimiento en presencia de ácido acético al 0,35% y pH 3,5 demuestra su capacidad para tolerar ambientes ácidos, una característica adaptativa esencial para bacterias acéticas que frecuentemente habitan en entornos fermentativos donde los ácidos orgánicos son prevalentes (Machado et al., 2018; Zailani & Adnan, 2022).

El crecimiento positivo bajo la condición de etanol al 3% en presencia de ácido acético al 5% refleja su potencial para metabolizar el etanol y tolerar altos niveles de ácido acético, lo cual es significativo en su aplicación industrial en la producción de celulosa bacteriana (Du et al., 2018; Neves et al., 2022). Sin embargo, el hecho de que no requiera estrictamente ácido acético para su crecimiento indica una versatilidad metabólica que le permite desarrollarse en medios sin la necesidad de este compuesto, lo cual puede ser ventajoso en diversas condiciones de cultivo (Abol-Fotouh et al., 2020; Akintunde et al., 2022).

La capacidad de *K. xylinus* para utilizar etanol como fuente de carbono refuerza su habilidad para metabolizar este compuesto, lo cual es beneficioso para procesos industriales donde el etanol es un subproducto disponible (Rahman et al., 2021; Santoso et al., 2020). Finalmente, la producción de celulosa es uno de sus rasgos más significativos, confirmada con un resultado positivo (X. Liu et al., 2023; Ye et al., 2019).

Esta característica destaca a *K. xylinus* en el campo de la biotecnología por su aplicación en materiales compuestos, medicina y como biomaterial sostenible.

**Tabla 8** Ensayos de Caracterización bioquímica para la identificación de *K. xylinus*

Ensayos de caracterización	<i>K. xylinus</i>	(Lee et al., 2024)
Reacción la Tinción de Gram	–	–
Actividad Producción de catalasa	+	+
Actividad Oxidasa	–	–
Producción de indol	–	–
Crecimiento en presencia de ácido acético al 0,35% (pH 3,5)	+	+
Crecimiento con etanol al 3% (v/v) en presencia de ácido acético al 5%	+	+
Requerimiento de ácido acético para el crecimiento	–	–
Crecimiento del etanol de origen carbónico	+	+
Producción de celulosa	+	+

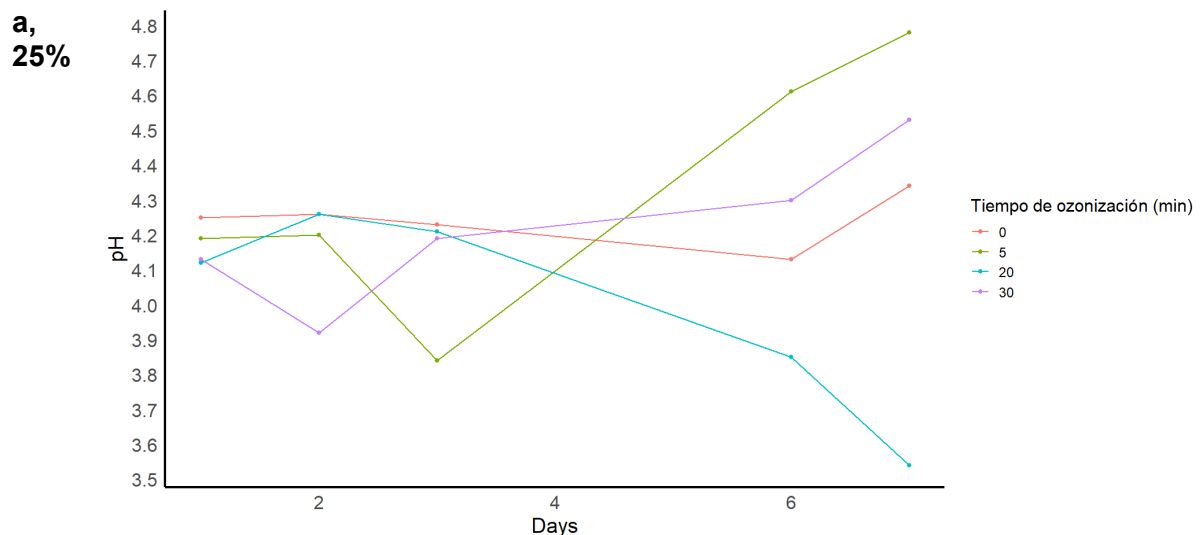
#### **4.1.2. Evaluación del impacto de la ozonización del jugo de raquis de banano en la producción de nanocelulosa bacteriana**

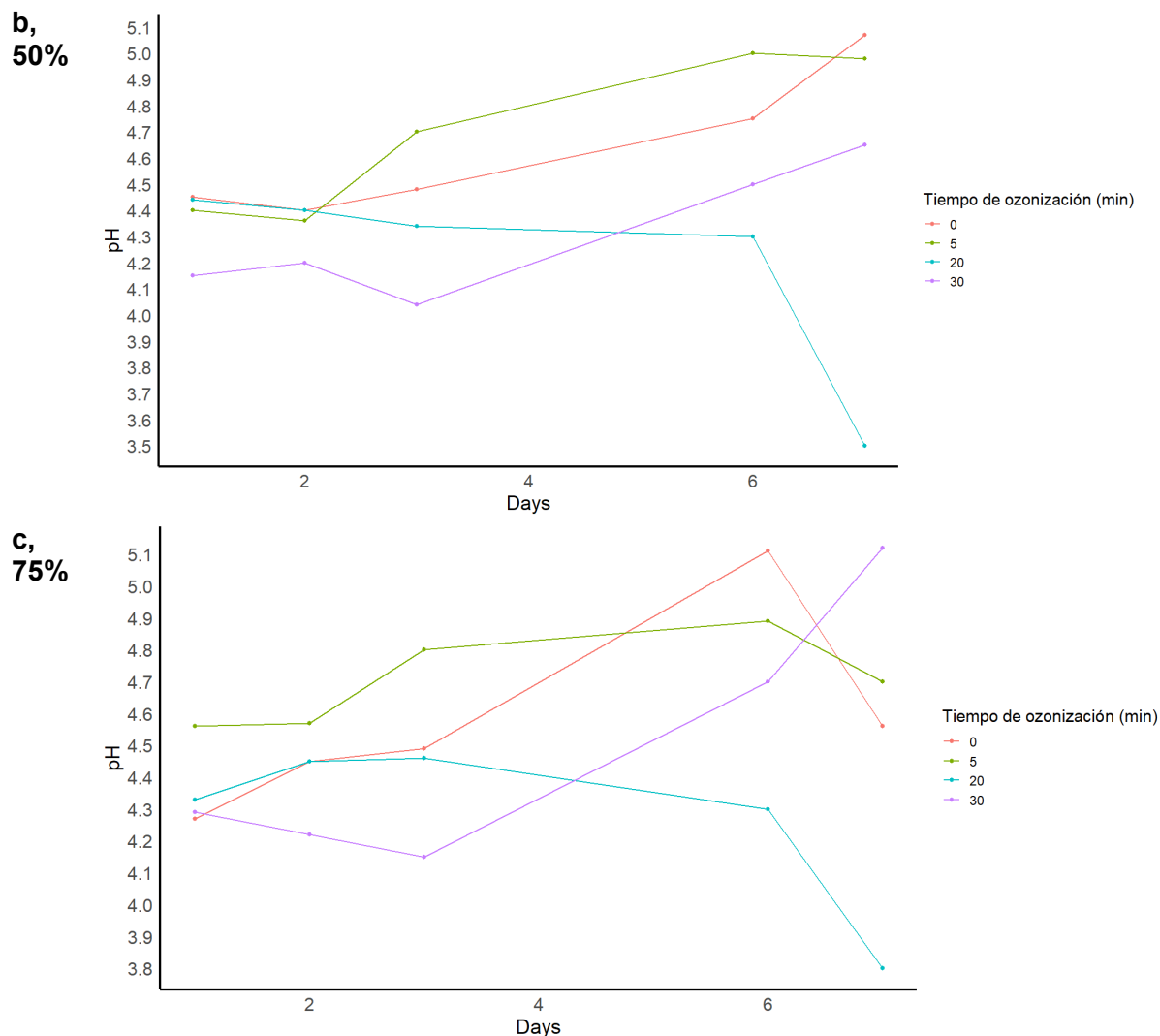
El ozono (O<sub>3</sub>) es un fuerte agente oxidante (E<sub>0</sub> = 2,07 V, 25 °C) que se puede generar fácilmente a partir de oxígeno *in situ* y a demanda (Rosen et al., 2019, 2021; Travaini et al., 2016). Se puede llevar a cabo a temperatura y presión ambiente, lo que lo hace muy conveniente y rentable. Además, la capacidad

del ozono para disolverse en agua (110 mg/L a 25 °C) y su vida media relativamente corta en agua (20 min) (García-Cubero et al., 2009; Zucker et al., 2016) evita la formación de restos que requieran tratamiento al final del proceso (Rosen et al., 2019).

El análisis de la variación del pH del medio con JRB a distintas concentraciones y tratamientos de ozonización revela patrones para la producción de NCB. En medios sin ozonizar (R-25, R-50, R-75), el pH inicial es relativamente estable, mostrando ligeras fluctuaciones a lo largo de los días de análisis. Los medios ozonizados por 5 minutos (R-25-5, R-50-5, R-75-5) presentan un comportamiento del pH más similar a los medios sin ozonizar, indicando que tiempos de ozonización más cortos no afectan de manera significativa la acidez del medio. Ver Figura 10a, Figura 10b y Figura 10c.

Particularmente, los tratamientos JRB a concentraciones de 25%, 50% y 75%, ozonizados durante 20 minutos muestran un descenso significativo del pH, llegando a valores de 3.54 y 3.50 respectivamente en el día 7. Este descenso podría tener implicaciones directas en el crecimiento y la actividad metabólica de las bacterias productoras de NCB, ya que el pH del medio es un factor crítico que influye en la eficiencia de la producción de NCB (Dima et al., 2017; Du et al., 2018). Un pH más bajo podría inhibir el crecimiento bacteriano o alterar la estructura de la nanocelulosa producida (Aditiawati et al., 2023; Lee et al., 2024).





**Figura 10.** Dinámica del pH en medios de cultivo con diferentes concentraciones de jugo de raquis de banana (a, 25%; b, 50%, y c, 75%.) y tiempo de ozonización (0,5,20, y 30 min) durante 7 d de fermentación.

La alta velocidad de reacción del ozono con compuestos fenólicos (por ejemplo, furfural y HMF) y su baja afinidad con los azúcares y el etanol ( $K_{O_3}=1300 \text{ m}^{-1}\text{s}^{-1}$  para fenol,  $0,45 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  para la glucosa, y  $0,37 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  para etanol) (Hoigné & Bader, 1983; Pryor et al., 1984) a valores de pH neutros a ácidos, da como resultado la eliminación eficiente de los inhibidores de la celulasa y mejora la sacarificación (Cavka et al., 2015; Rosen et al., 2019; Travaini et al., 2016; Vidal & Molinier, 1988), lo que lo convierte en una opción deseable para la eliminación de los compuestos hidrolizados.

Mientras que la ozonización corta, eliminó eficazmente los compuestos fenólicos mediante la degradación de la lignina (Rosen et al., 2019, 2021; Travaini et al., 2016), el furfural del tratamiento de aguas residuales (Von Gunten, 2003) y el azúcar blanqueado (Fernández et al., 2006), las ozonizaciones largas aumentaron la concentración de ácidos orgánicos, reduciendo la eficiencia de la fermentación (Cavka et al., 2015). Sin embargo, también se sugirió que el ozono es un mutágeno de la levadura

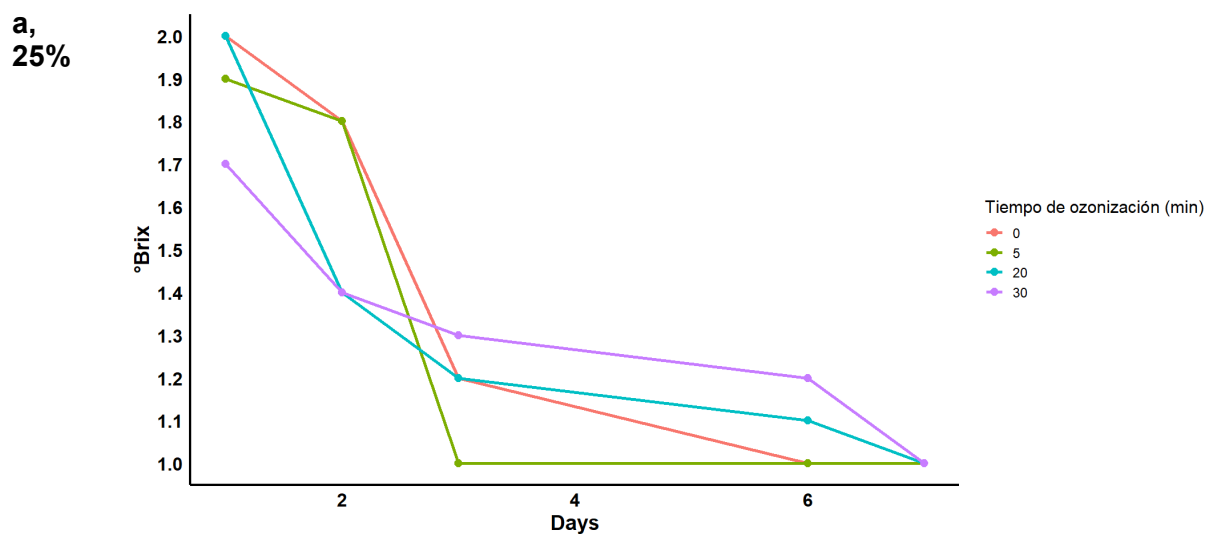


(Dubeau & Young, 1982; Ito et al., 2005); por lo tanto, se requiere una mejor comprensión de la cinética de la ozonización.

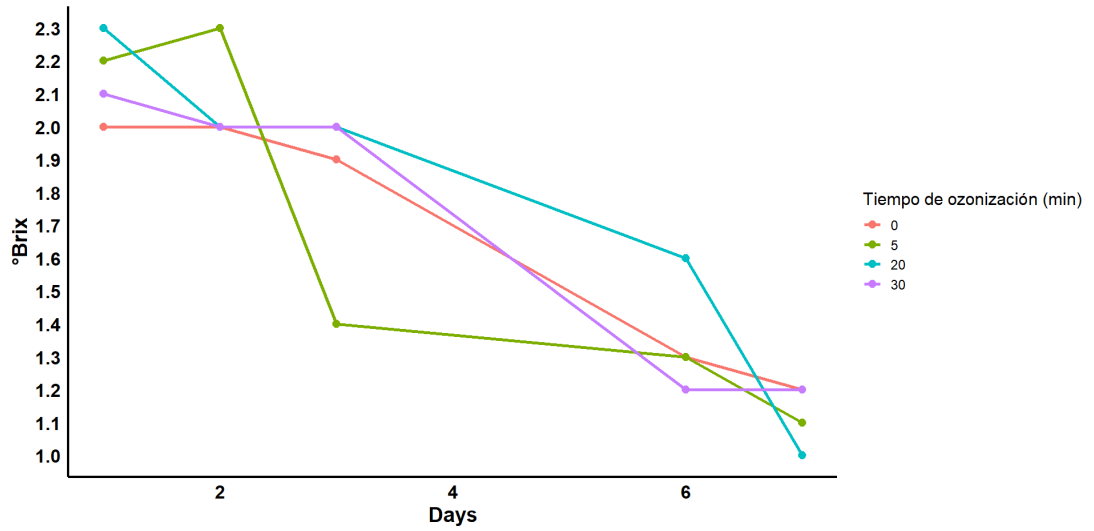
Además, la Figura 11a, Figura 11b, y Figura 11c, muestran que el tratamiento con ozono afecta significativamente los °Brix del jugo de raquis de banano. Al observar los tratamientos sin ozonización (Tiempo = 0), todas las concentraciones de JRB-25, JRB-50, JRB-75, muestran una disminución en los °Brix a lo largo del tiempo. Este fenómeno sugiere que los azúcares solubles están siendo consumidos por la biomasa presente en el medio, posiblemente debido a la actividad microbiana natural. Este comportamiento inicial sirve como un control para evaluar la efectividad de la ozonización.

Para los tratamientos con ozono, se observa una variedad de efectos según la duración del tratamiento. En el caso de la ozonización por 5 minutos, los °Brix muestran mayor estabilidad en JRB-75, lo cual podría indicar que una mayor concentración de jugo es más resistente a los cambios en los sólidos solubles, probablemente debido a una menor susceptibilidad a la degradación microbiana (Seri et al., 2022). La exposición al ozono durante 20 minutos parece aumentar la estabilidad de los °Brix en la concentración R-75.

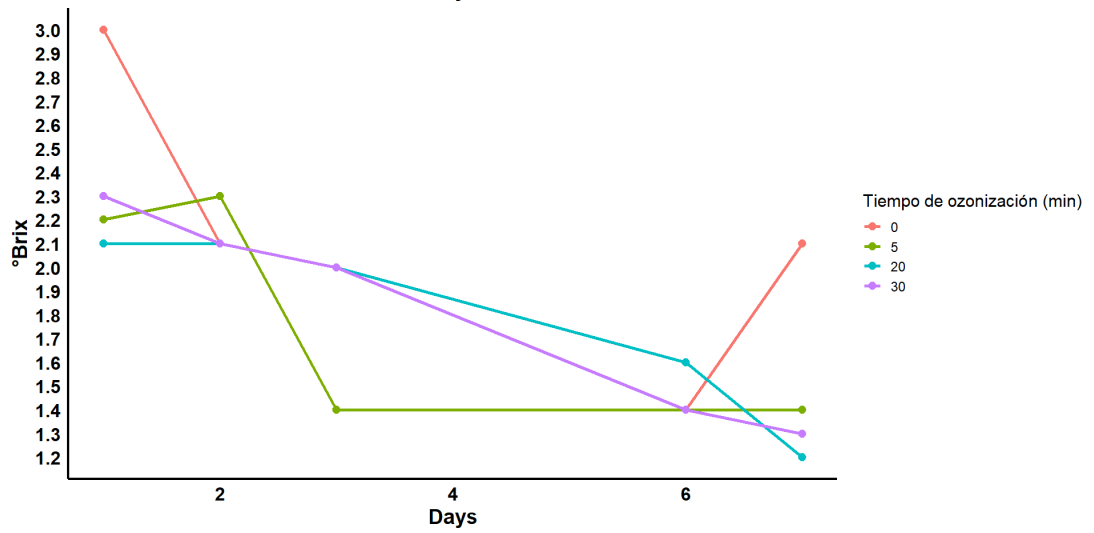
En contraste, la ozonización por 30 minutos resulta en una disminución de los °Brix similar a los tratamientos con menor duración. Este hallazgo indica que una exposición prolongada al ozono no necesariamente contribuye a mantener altos los niveles de °Brix. De hecho, podría estar ocurriendo una sobreexposición que afecta negativamente la calidad del jugo al promover reacciones oxidativas adicionales que degradan los azúcares solubles.



**b,  
50%**

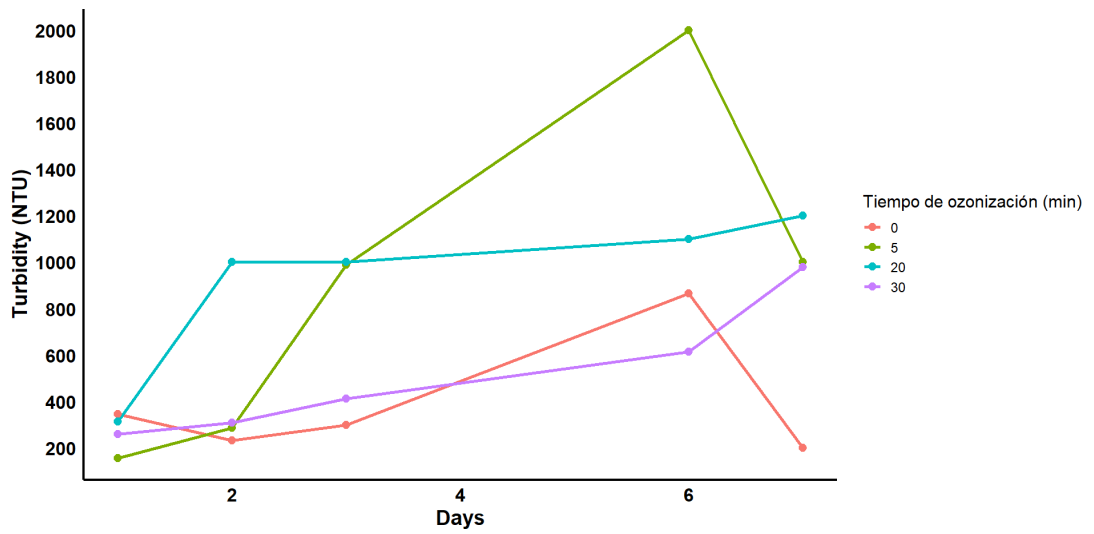


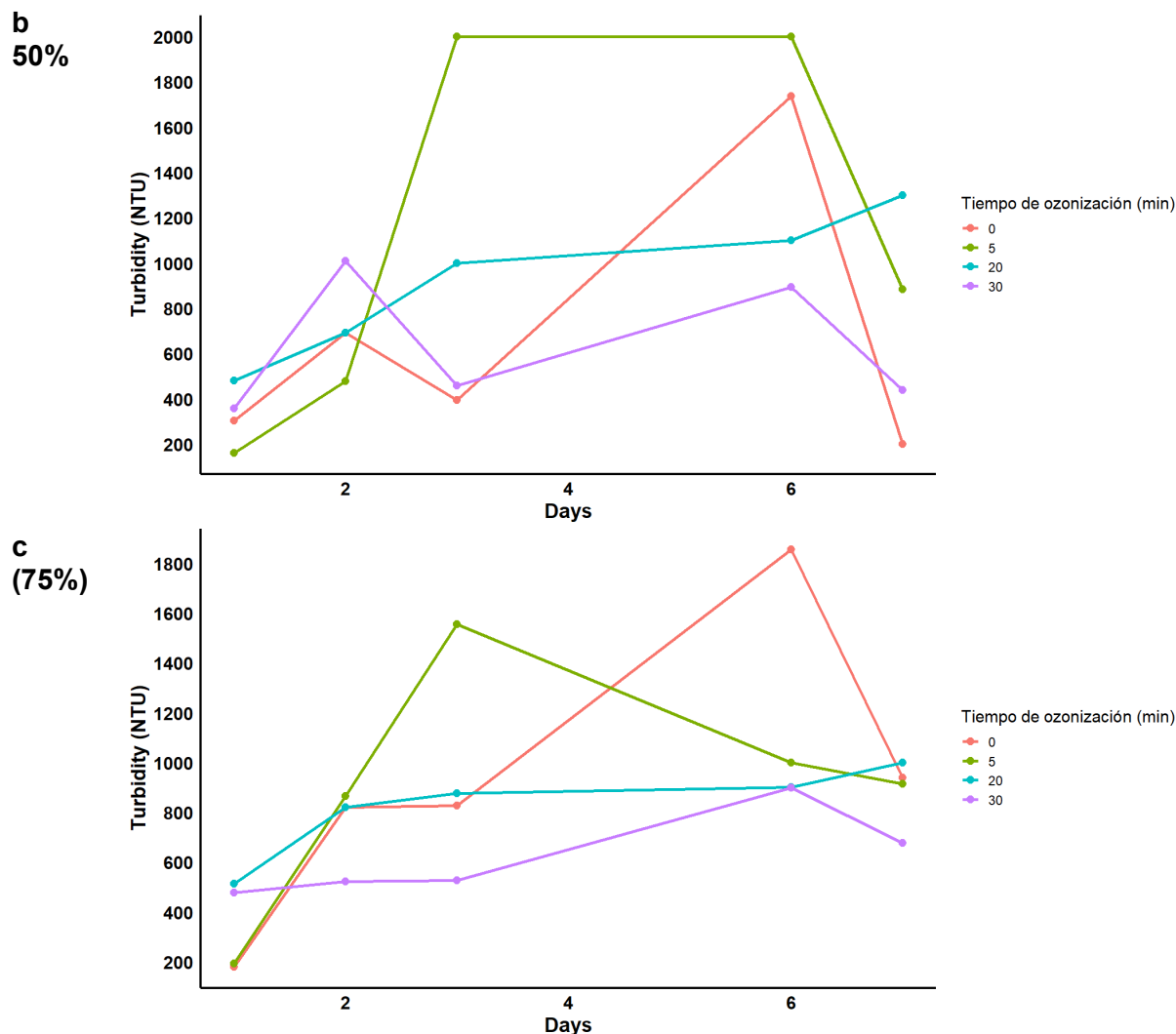
**c,  
75%**



**Figura 11.** Variación de los °Brix del medio con jugo de raquis de banano a distintas concentraciones: (a, 25%, b, 50%, y c, 75%).

**a  
25%**





**Figura 12.** Variación de la turbidez del medio con jugo de raquis de banano a distintas concentraciones: (a, 25%, b, 50%, y c, 75%).

Así mismo, los resultados obtenidos en este estudio evidencian los efectos del tratamiento con ozono sobre la turbidez del JRB, medida en Unidades Nefelométricas de Turbidez (NTU). Ver Figura 12.

En ausencia de tratamiento con ozono, se observa una variabilidad considerable en la turbidez a lo largo del tiempo para todas las concentraciones de JRB (25%, 50%, 75%). En el caso de JRB 25%, la turbidez fluctúa de 345 NTU en el día 1 a 866 NTU en el día 6, antes de disminuir a 200 NTU en el día 7. Este patrón sugiere una proliferación inicial de microorganismos seguida de una posible sedimentación o clarificación parcial del medio. Para JRB 50% y JRB 75%, se observa un aumento significativo en la turbidez, alcanzando picos de 1736 NTU y 1856 NTU respectivamente en el día 6, lo que indica una alta actividad microbiana sin el efecto del ozono.

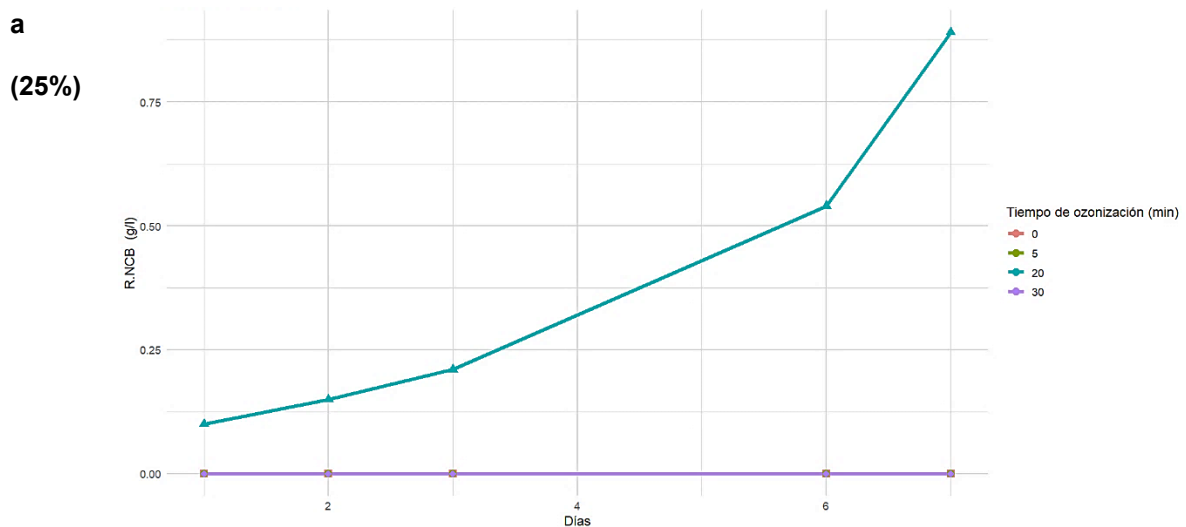
El tratamiento con ozono por 5 minutos muestra un impacto notable en la turbidez, especialmente en las concentraciones JRB 25% y JRB 50%. En JRB 25%, la turbidez aumenta a 2000 NTU en el día 6,

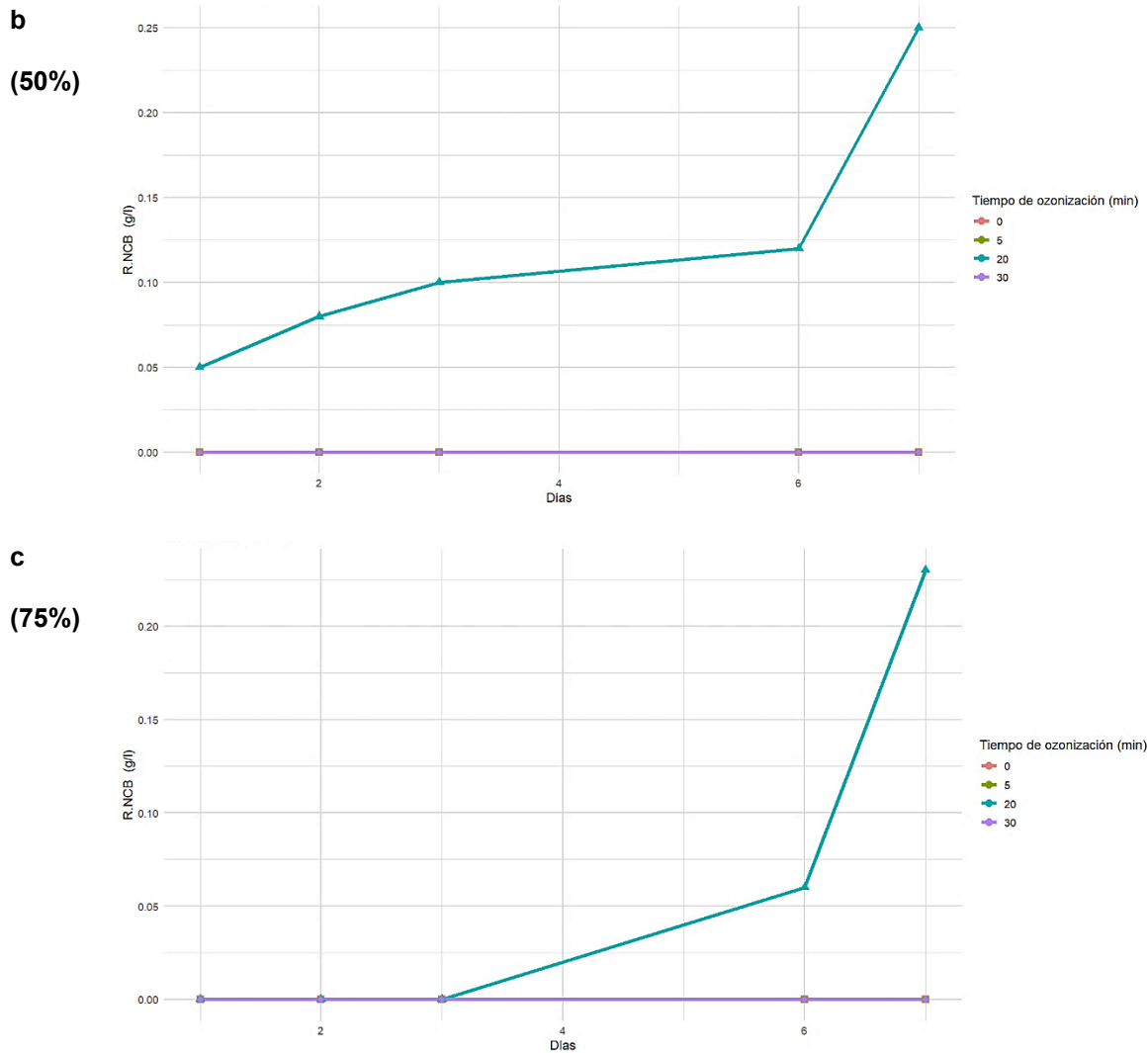
lo que sugiere una activación inicial de microorganismos que luego se estabiliza. En JRB 50%, se observa una estabilización en torno a los 2000 NTU durante varios días, indicando que la biomasa presente está en equilibrio, posiblemente debido a la acción antimicrobiana parcial del ozono. En JRB 75%, la turbidez alcanza 1556 NTU en el día 3 y se mantiene relativamente alta, lo que podría ser una señal de resistencia microbiana o un equilibrio dinámico entre la proliferación y la eliminación microbiana.

El tratamiento con ozono por 20 minutos revela una reducción en las fluctuaciones de turbidez, especialmente en las concentraciones más altas. En JRB 25%, la turbidez se estabiliza en torno a 1200 NTU en el día 7, mientras que en JRB 50% y JRB 75%, los valores de turbidez oscilan menos, manteniéndose entre 1100 y 1300 NTU.

Finalmente, la ozonización por 30 minutos muestra una tendencia general a reducir la turbidez en comparación con tiempos de ozonización más cortos. En JRB 25%, la turbidez aumenta progresivamente desde 259 NTU en el día 1 hasta 979 NTU en el día 7. En JRB 50%, los valores de turbidez son menores en comparación con tratamientos de menor duración, con un máximo de 1008 NTU en el día 2. Para JRB 75%, la turbidez alcanza un pico de 899 NTU en el día 6, antes de disminuir a 677 NTU en el día 7, indicando que el ozono tiene un efecto significativo en la reducción de la biomasa a concentraciones más altas y tiempos de exposición prolongados.

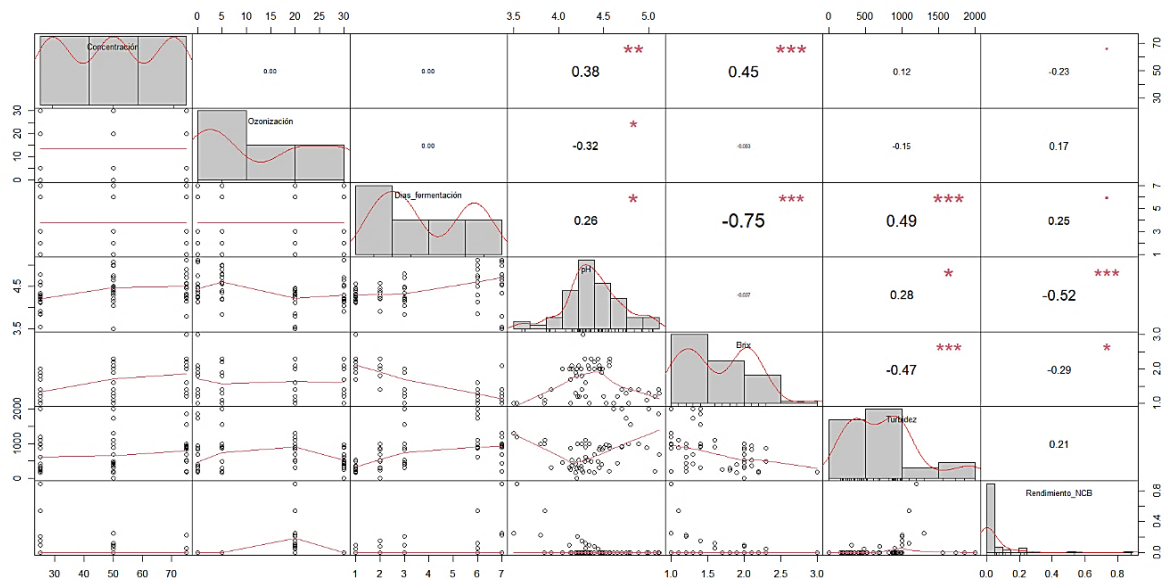
En la Figura 13, se puede observar la cinética del rendimiento de NCB a distintas concentraciones de JRB y tiempos de ozonización. La concentración de JRB mostró un efecto significativo en el rendimiento de NCB.





**Figura 13.** Variación del rendimiento de producción de nanocelulosa bacteriana ( $g\ l^{-1}$ ) a partir de jugo de raquis de banana a distintas concentraciones: (a, 25%, b, 50%, y c, 75%).

En general, las concentraciones más altas de JRB (50% y 75%) tendieron a producir menores rendimientos de NCB, especialmente cuando se combinaron con tiempos moderados de ozonización (20 minutos). Esto sugiere que una mayor disponibilidad de sustrato no favorece necesariamente la producción de NCB en estas condiciones. Los medios con JRB sin ozonizar y aquellos ozonizados a tiempos distintos de 20 minutos no mostraron crecimiento significativo de NCB, indicando que tanto la concentración del sustrato como el tiempo de ozonización son críticos para la producción óptima de NCB.



**Figura 14.** Correlación entre las variables. • indica  $p < 0.10$ . \* indica  $p < .05$ . \*\* indica  $p < 0,01$ . \*\*\* indica  $p < 0,001$ .

Se analizaron las correlaciones entre las distintas variables. Ver Figura 14. En la diagonal del gráfico de correlación, se presentan histogramas o densidades de las distribuciones de cada variable individual. Estos gráficos muestran cómo se distribuyen los valores de cada variable en el conjunto de datos. Debajo de la diagonal, se encuentran las matrices de dispersión (scatter plots) que muestran las relaciones bivariadas entre las variables. Cada gráfico de dispersión ilustra cómo una variable se correlaciona con otra. Por ejemplo, la dispersión entre °Brix y rendimiento de NCB muestra puntos que indican cómo varían los valores de °Brix con respecto a los rendimientos de NCB observados. Arriba de la diagonal, se encuentran los coeficientes de correlación de Pearson entre cada par de variables, los valores positivos indican una correlación directa, mientras que los negativos indican una correlación inversa.

La concentración de JRB muestra una tendencia significativa con respecto al rendimiento de NCB ( $\text{gl}^{-1}$ ) y los días de fermentación. El rendimiento de NCB está significativamente correlacionado con los °Brix ( $r = -0.29$ ), indicando una relación inversa moderada. Además, el rendimiento de NCB presenta una correlación inversa altamente significativa ( $r = -0.52$ ), sugiriendo que a medida que aumenta la concentración de NCB, disminuyen los °Brix de manera notable. La turbidez del medio, que es una medida indirecta de la biomasa, mostró una correlación positiva altamente significativa con los días de fermentación. Esto indica que la biomasa aumenta con el tiempo de fermentación, lo cual es consistente con un mayor crecimiento microbiano. Sin embargo, esta turbidez también mostró una correlación negativa significativa con los °Brix, sugiriendo que el crecimiento microbiano está asociado con el consumo de azúcares solubles.

El tiempo de ozonización y la concentración de JRB tienen efectos significativos y complejos sobre el rendimiento de NCB. Los tratamientos con tiempos moderados de ozonización (20 minutos) parecen optimizar la estabilidad de los °Brix y el rendimiento de NCB, especialmente en concentraciones altas de JRB. Sin embargo, exposiciones prolongadas (30 minutos) pueden ser contraproducentes. Estos hallazgos sugieren que tanto la concentración de sustrato como el tiempo de ozonización deben ser cuidadosamente controlados para maximizar la producción de NCB.

#### 4.1.3. Caracterización fisicoquímica del jugo de nervadura de banano, el inóculo madre, la infusión de té verde y el jugo de raquis de banano

En el contexto de esta investigación, se ha llevado a cabo un análisis minucioso de las propiedades fisicoquímicas inherentes a los componentes de la formulación del medio de cultivo. Los resultados derivados de estas evaluaciones se pueden encontrar en la Tabla 9.

**Tabla 9.** Caracterización fisicoquímica de las materias primas

Parámetros	Jugo de hoja de banano	Jugo de raquis de banano*	Infusión de té verde	Inoculo madre
pH	5,64±0,02 <sup>a</sup>	5,35±0,02 <sup>a</sup>	5,37±0,02 <sup>a</sup>	3,20±0,02 <sup>b</sup>
Densidad (g/ml)	1,02±5,0E <sup>-3a</sup>	1,01±5,0E <sup>-3a</sup>	1,01±5,0E <sup>-3a</sup>	1,05±5,0E <sup>-3a</sup>
°Brix	4,00±0,32 <sup>b</sup>	2,10±0,32 <sup>c</sup>	1,33±0,32 <sup>c</sup>	12,83±0,32 <sup>a</sup>
Azúcares reductores (g/l)	15,97±0,49 <sup>a</sup>	8,97±0,29 <sup>b</sup>	0,00±0,00 <sup>c</sup>	5,67±0,49 <sup>b</sup>
Conductividad (µS/cm)	16,57±5,70 <sup>a</sup>	17,07±1,20 <sup>a</sup>	39,40±5,70 <sup>b</sup>	75,13±5,70
Actividad antioxidante (DPPH) (%)	71,00±0,11 <sup>a</sup>	26,70±1,10 <sup>b</sup>	70,27±0,11 <sup>a</sup>	16,18±0,11 <sup>c</sup>
Trolox (µM)	45,07±0,58 <sup>a</sup>	16,43±0,50 <sup>b</sup>	45,47±0,58 <sup>a</sup>	8,17±0,58 <sup>c</sup>
L*	27,55±0,13	34,55±0,13	92,23±0,13	90,97±0,13
a*	0,49±0,15	20,50±0,12	-5,24±0,15	-0,42±0,15
b*	-0,35±0,32	25,20±0,04	34,48±0,32	15,33±0,32
chroma	0,62±0,16	32,50±0,07	27,43±0,16	15,13±0,16
Hue	324,03±0,32	50,20±0,03	210,33±0,32	90,50±0,32

(\*): Jugo de raquis de banano-O<sub>3</sub>-20 min; Medias de las tres repeticiones ± desviación estándar. Las mismas letras en superíndice dentro de una fila indican que no hay diferencias significativas (p ≤ 0,05 según la prueba de Tukey).

El pH desempeña un papel crítico en los procesos de fermentación. Se identificó que el JHB posee un carácter menos ácido en comparación con la ITV y el IM. No obstante, los hallazgos de Tan et al., (2019) establecieron un valor de pH de 6,8 para el JHB, mientras que Mago et al., (2021) determinaron un pH de 6,4±0,15 para la biomasa de la hoja de banano. La variabilidad en el pH del JHB puede estar

influenciada por factores como el tipo de suelo, la variabilidad genética y el uso de fertilizantes químicos (Fiall

os-Cárdenas et al., 2022b; He et al., 2023).

Por otro lado, el valor del pH de la ITV es muy similar a los valores obtenidos en otras investigaciones (Bai et al., 2023; Kim et al., 2016; H.-L. Tan et al., 2023). El valor ácido de la ITV podría atribuirse a la extracción de compuestos presentes en las hojas de té como ácidos orgánicos, fenoles, grupos carboxílicos y aminoácidos (H.-L. Tan et al., 2023).

En cuanto al pH del IM exhibe valores similares a los reportados en otras investigaciones (M. A. D. Costa et al., 2022; Ulusoy & Tamer, 2019). Se ha sugerido que un rango de pH ácido, aproximadamente entre 6 y 3, podría propiciar la proliferación de una gama más amplia de microorganismos, y potencialmente impulsar la producción de nanocelulosa bacteriana (Fiallos-Cárdenas et al., 2021). JRB presenta una acidez moderada y una densidad similar al JHB y ITV.

La densidad y los grados Brix indican la concentración de sólidos solubles totales (SST). La ITV presenta valores similares a los obtenidos en investigaciones previas (H.-L. Tan et al., 2023). Según Kim et al., (2016) Los SST en el ITV pueden ser por la presencia de compuestos fenólicos, alcaloides, carbohidratos, aminoácidos, pigmentos, vitaminas, y otros compuestos menores (Kim et al., 2016). El IM muestra una mayor densidad y °Brix, sugiriendo una mayor concentración de compuestos solubles en comparación con el JHB y el ITV. Esto podría proveer más nutrientes para la actividad microbiana durante la fermentación.

El JHB presentó la mayor cantidad de azúcares reductores al compararlos con la ITV y el IM. He et al., (2023) determinaron que en los cultivares de banano Williams y Grand Nain el contenido de carbohidratos solubles totales fue de  $25,21 \pm 2,84$  y  $23,50 \pm 0,86$  mg/g, respectivamente. Por otro lado, Tan et al., (2019) encontró que el jugo prensado de las hojas de banano contenía un azúcar total de 14% con la cantidad de glucosa (18,9 g/L), sacarosa (13,29 g/L) y fructosa (15,63 g/L). JRB tiene un menor contenido de sólidos solubles y azúcares reductores en comparación con el JHB. Es importante señalar que factores como el tipo de suelo y la variabilidad genética pueden inducir cambios significativos en la composición de la biomasa del banano (He et al., 2023).

La conductividad eléctrica del JHB sugiere una presencia notable de iones en esta solución. Mago et al., (2021) determinaron que la conductividad de la biomasa de la hoja de banano era  $1,98 \pm 0,02$  mS/cm, siendo un valor más alto de lo reportado en esta investigación. Según Tan et al., (2019) el jugo obtenido por prensado de la hoja del banano posee una cantidad significativa de macroelementos (K, Na



y Mg) y trazas de microelementos (Fe, Cu, Zn y B). Respecto a ITV, Bai et al., (2023) determinaron tres macroelementos (Ca, K y Mg) y once oligoelementos (Al, As, B, Cd, Co, Cr, Fe, Mn, Pb, Se y Zn) en hojas de té verde. Walker & Stewart, (2016) indican que la presencia de estos macroelementos (K, Na y Mg), microelementos (Fe, Cu, Zn y B) en el medio de cultivo se considera crucial en la fermentación microbiana, indicando que tienen un efecto significativo en la tasa de crecimiento de la levadura, el consumo de sustrato y en el rendimiento de la producción de bebidas fermentadas.

Por otro lado, la capacidad antioxidante del JHB, marcada por un 71,0%, junto con una concentración significativa de trolox, resalta su capacidad para proteger contra el daño oxidativo. El JHB y la ITV muestran una alta actividad antioxidante, atribuible a los fitoquímicos presentes en las hojas de banano y en el té verde, respectivamente. H.-L. Tan et al., (2023) determinaron valores similares 76,71 – 95,48% de inhibición. Esta capacidad puede proteger contra el daño oxidativo durante la fermentación. Las hojas de banano contienen fitoquímicos como flavonoides, taninos y terpenoides (Marie-Magdeleine et al., 2010). El JRB presentó una actividad antioxidante inicial de  $86,30 \pm 0,10\%$ , la cual se redujo debido a la ozonización. Este proceso puede disminuir la actividad antioxidante de alimentos y compuestos naturales debido a la descomposición de antioxidantes y la oxidación de compuestos fenólicos y ácidos grasos. Sin embargo, los efectos específicos de la ozonización dependen de diversos factores, como la naturaleza del alimento, las condiciones de ozonización y la composición química de los antioxidantes presentes (Cavka et al., 2015).

En el caso del JHB, se observa un valor de luminosidad con una tonalidad relativamente menos clara. Los valores de  $a^*$  y  $b^*$ , sugieren una mínima tendencia hacia tonalidades rojizas y una ligera inclinación hacia tonalidades azules.

En contraste, el ITV exhibe un  $L^*$  más elevado, lo que refleja una mayor luminosidad o claridad en comparación con el JHB. Sin embargo, los valores de  $a^*$  y  $b^*$  sugieren una inclinación hacia tonalidades más verdosas y con matices azulados. Los resultados obtenidos estuvieron de acuerdo con los obtenidos por otros estudios (Bai et al., 2023; H.-L. Tan et al., 2023). Bai et al., (2023), los cuales sostienen que los valores  $a^*$  y  $b^*$  en la ITV están estrechamente relacionados con los Sólidos Totales Disueltos (TDS) y pH elevados, destacando que un aumento en los TDS puede intensificar el color en el té verde. Esta relación entre los atributos de color y la composición química del producto es esencial para comprender las influencias de los componentes del medio en las características visuales del producto final. Por otro lado, el IM presenta el valor más alto de luminosidad denotando una mayor claridad visual. Además, los valores de  $a^*$  y  $b^*$  indican una marcada tendencia hacia tonalidades rojizas y amarillas.

Los valores de chroma, que representan la saturación del color, varían significativamente entre las muestras. El JHB exhibe el valor más bajo de chroma lo que indica una menor saturación de color. Mientras tanto, el ITV y el IM muestran valores significativamente más altos, sugiriendo una mayor saturación y viveza en las tonalidades presentes en estas muestras. El agua de preparación es uno de los principales factores que afectan el color de la infusión de té. Los resultados del análisis de los valores  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , chroma ( $C^*$ ) y hue ( $H^*$ ) de las muestras JHB, ITV e IM indican que estas presentan diferencias significativas en sus características cromáticas. La muestra IM es la más luminosa, roja y amarilla de las tres, mientras que la muestra JHB es la más oscura, verde y de menor saturación. JRB tiene un valor de chroma alto, indicando una mayor intensidad de color. Tales variaciones podrían estar relacionadas con la presencia y concentración de compuestos bioquímicos, como fitoquímicos o antioxidantes, presentes en cada uno de los medios analizados, lo que influye en sus características visuales y potencialmente en sus propiedades funcionales en aplicaciones de fermentación y producción biológica (Dáger-López et al., 2024).

#### 4.1.4. Diseño experimental utilizando el método de Box-Behnken

El diseño experimental basado en el método de Box-Behnken se implementó para optimizar el rendimiento en la producción de NCB. Ver Tabla 10, donde se muestran los niveles de cada una de las variables analizadas.

**Tabla 10.** Niveles de las variables para la metodología Box-Behnken

Variables	Niveles de las variables		
	-1	0	1
X1. Jugo de hoja de banano (% p/p)	30	40	50
X2. Jugo de raquis de banano (% p/p)	0	15	30
X3. tiempo de fermentación (días)	7	14	21

Niveles de las variables, -1: nivel bajo; 0: nivel medio; 1: nivel alto de la variable.

La Tabla 11 presenta los resultados obtenidos para las diferentes combinaciones de los factores experimentales, mostrando tanto los rendimientos experimentales como los rendimientos calculados por el modelo.

**Tabla 11.** Resultados diseño Box-Behnken para la optimización del rendimiento de nanocelulosa bacteriana

Nº	X1. Jugo de hoja de banano	X2. Jugo de raquis de banano	X3. Tiempo de fermentación	Rendimiento Experimental ( $gl^{-1}$ )	Rendimiento Calculado ( $gl^{-1}$ )
1	-1	-1	-1	10.50	10.65
2	0	-1	-1	11.50	11.02
3	1	-1	-1	10.40	10.51

4	-1	0	-1	0.00	0.21
5	1	0	-1	0.10	0.24
6	-1	1	-1	0.00	-0.27
7	0	1	-1	0.00	0.28
8	1	1	-1	0.10	-0.05
9	-1	-1	0	11.90	11.89
10	1	-1	0	11.60	11.69
11	-1	1	0	0.20	0.23
12	1	1	0	0.50	0.40
13	-1	-1	1	12.30	12.39
14	0	-1	1	12.80	12.70
15	1	-1	1	12.00	12.14
16	-1	0	1	1.30	1.21
17	1	0	1	1.40	1.14
18	-1	1	1	0.10	-0.002
19	0	1	1	0.20	0.50
20	1	1	1	0.10	0.12

El análisis estadístico proporciona métricas clave de ajuste del modelo que refuerzan la validez y la precisión del mismo (Czyrski & Sznura, 2019). De acuerdo con la literatura existente, el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) indica conformidad cuando supera el 70% y se interpreta favorablemente a medida que se acerca a 1,00, lo que significa un ajuste superior del modelo a los datos reales o a su significación general (Nurcholis et al., 2023). Además, el  $R^2$  ajustada se emplea para evaluar la alineación de los resultados experimentales con los resultados teóricos (Laavanya et al., 2021). En particular, los valores de  $R^2$  y el  $R^2$  ajustado, así como la estadística F y su valor p asociado, ofrecen una comprensión más profunda del desempeño estadístico del modelo.

El  $R^2$  múltiple obtenido es 0.9988, lo que indica que el modelo explica el 99.88% de la variabilidad en la respuesta del rendimiento. Este valor es extremadamente alto, lo que sugiere que el modelo tiene un excelente ajuste a los datos observados. Este nivel de explicación es muy deseable en el contexto de modelos predictivos y optimización, ya que implica que el modelo es altamente representativo del sistema estudiado.

El  $R^2$  ajustado, que es 0.9978, proporciona una medida ajustada del  $R^2$  que toma en cuenta el número de predictores en el modelo y la cantidad de datos disponibles. El hecho de que el  $R^2$  ajustado sea muy cercano al  $R^2$  múltiple sugiere que el modelo no está sobreajustado y que la inclusión de los términos adicionales (efectos lineales, interacciones y términos cuadráticos) es justificada. El  $R^2$  ajustado es particularmente útil en modelos con múltiples predictores, ya que penaliza la inclusión de predictores innecesarios y ayuda a prevenir el sobreajuste (Box & Behnken, 1960).

La estadística F del modelo es 940, con 9 grados de libertad para el modelo y 10 grados de libertad para los residuos. Este valor de F extremadamente alto, junto con un valor p de  $1.954 \times 10^{-13}$ , indica que

el modelo global es altamente significativo. La estadística F compara el modelo completo con un modelo nulo que no contiene predictores y determina si hay suficiente evidencia para concluir que al menos uno de los predictores está asociado con la respuesta. En este caso, el valor p muy bajo sugiere que es casi imposible que los efectos observados sean debidos al azar, proporcionando una fuerte evidencia de que el modelo es adecuado para describir la relación entre los factores y el rendimiento (Bae & Shoda, 2005; Dwivedi & Sharma, 2015). Ver Tabla 12.

**Tabla 12.** Análisis de regresión para la producción de nanocelulosa bacteriana.

<b>Factores</b>	<b>Coefficientes</b>	<b>Error estándar</b>	<b>Valor t</b>	<b>Pr(&gt; t )</b>
Intercepto	2,2833	2,8614	0,7980	0,4434
X1.JHB	0,3452	0,1338	2,5798	0,0274
X2.JRB	-3,0692	0,0972	-31,5755	2,3863E <sup>-11</sup>
X3.t	0,3417	0,1057	3,2335	0,0089
X1.JHB:X2.JRB	0,0018	0,0016	1,1741	0,2675
X1.JHB:X3.t	-0,0004	0,0011	-0,3202	0,7553
X2.JRB:X3.t	-0,0105	0,0022	-4,6964	0,0008
X1.JHB <sup>2</sup>	-0,0044	0,0017	-2,6416	0,0246
X2.JRB <sup>2</sup>	0,1995	0,0066	30,1143	3,8154E <sup>-11</sup>
X3.t <sup>2</sup>	-0,0074	0,0034	-2,1888	0,0534

X1.JHB: Jugo de hoja de banano, X2.JRB: Jugo de raquis de banano, X3.t: Tiempo (días).

Basado en los resultados del MSR y los coeficientes estimados, para predecir el rendimiento de NCB se expresa la siguiente ecuación (21).

$$\begin{aligned} \text{Rendimiento} = & 2.283 + 0.345 \cdot X1.JHB - 3.069 \cdot X2.JRB + 0.342 \cdot X3.t + 0.002 \cdot X1.JHB \cdot X2.JRB - 0.0004 \cdot X1.JHB \cdot X3.t - 0.010 \cdot X2.JRB \cdot X3.t + 0.002 \cdot X1.JHB \cdot X2.JRB - 0.0004 \cdot X1.JHB \cdot X3.t - 0.010 \cdot X2.JRB \cdot X3.t \\ & - 0.004 \cdot X1.JHB^2 + 0.200 \cdot X2.JRB^2 - 0.007 \cdot X3.t^2 - 0.004 \cdot X1.JHB^2 + 0.200 \cdot X2.JRB^2 - 0.007 \cdot X3.t^2 \end{aligned} \quad (21)$$

El análisis de varianza (ANOVA) aplicado al modelo Box-Behnken para la optimización del rendimiento en la producción de NCB revela hallazgos estadísticamente significativos que proporcionan una comprensión profunda de la influencia de las variables independientes sobre el rendimiento. El MSR se ajustó utilizando tres factores: X1.JHB, X2.JRB y X3.t, con un enfoque en tres componentes del modelo: los efectos lineales (FO), los términos de interacción de segundo orden (TWI) y los términos cuadráticos (PQ). Los resultados del ANOVA muestran que todos estos componentes son altamente significativos.

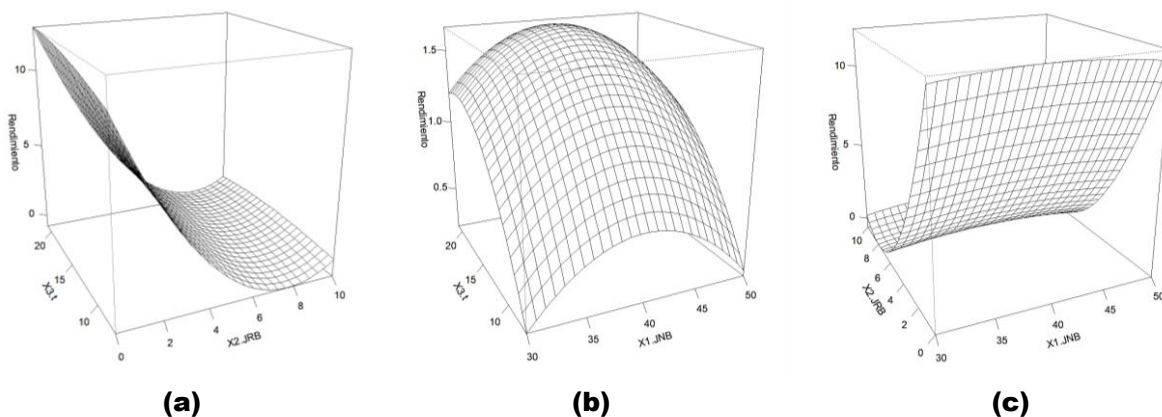
Los efectos lineales de los factores X1.JHB, X2.JRB y X3.t presentan un valor F de 2416.6932 con un valor p extremadamente bajo ( $1.341 \times 10^{-14}$ ), indicando que estos efectos lineales tienen una influencia altamente significativa sobre el rendimiento del proceso. Este resultado sugiere que las variaciones

lineales en los niveles de los factores considerados tienen un impacto substancial y predecible en la respuesta. La magnitud de estos valores F y p refuerza la importancia de los efectos lineales en el modelo.

Además, los términos de interacción de segundo orden (TWI), que consideran las interacciones entre los factores, también son significativos, con un valor F de 7.8458 y un valor p de 0.005529. Este hallazgo destaca la importancia de considerar no solo los efectos individuales de los factores, sino también cómo la combinación de dos factores puede influir conjuntamente en el rendimiento. Las interacciones significativas implican que ciertos niveles de X1.JHB pueden afectar el rendimiento de manera diferente dependiendo del nivel de X2.JRB y X3.t (Czyrski & Sznura, 2019).

Los términos cuadráticos (PQ), que modelan las relaciones no lineales entre los factores y la respuesta, presentan un valor F de 395.3916 y un valor p de  $1.102 \times 10^{-10}$ , lo que confirma su significancia estadística. La inclusión de estos términos cuadráticos en el modelo es crucial para capturar la curvatura en la superficie de respuesta, indicando que la relación entre los factores y el rendimiento no es simplemente lineal. Este tipo de modelado permite identificar óptimos locales y globales más precisamente, lo que es esencial para la optimización del proceso (Annadurai & Sheeja, 1998; Box & Behnken, 1960).

El análisis de los residuos muestra una suma de cuadrados de 0.73 y un error medio cuadrático de 0.073, lo que sugiere que el modelo ajustado explica la mayor parte de la variabilidad en los datos observados. La falta de ajuste (*lack of fit*) no es significativa, lo cual es un indicio de que el modelo propuesto es adecuado para describir los datos experimentales sin evidencia de falta de ajuste significativa. Esto refuerza la robustez del modelo y su capacidad para predecir con precisión el rendimiento del proceso.



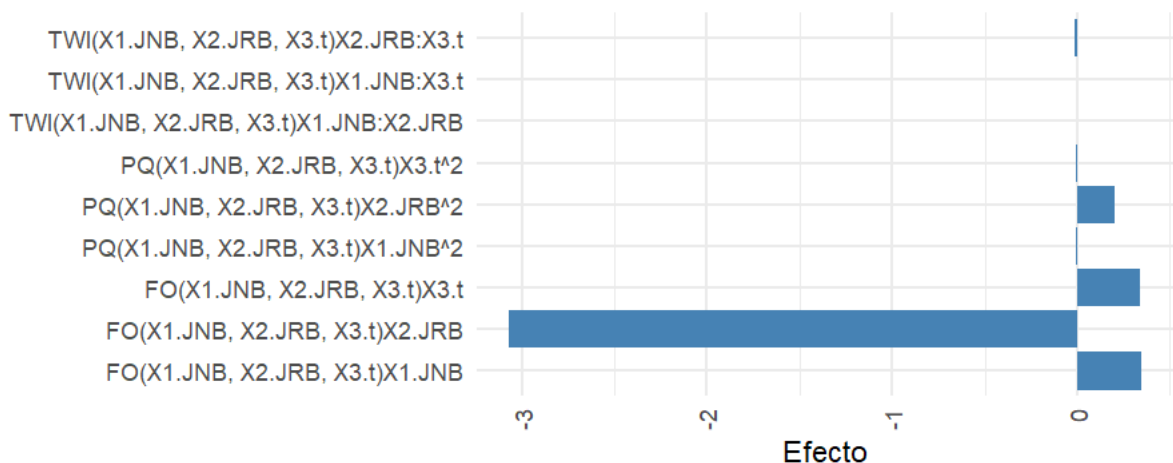
**Figura 15.** Curvas de superficie de respuesta para el rendimiento de NCB (eje y) en función de las variables de proceso composición del sustrato y tiempo de fermentación. (a) examina la relación entre la concentración de raquis de banano (X2.JRB) y el tiempo de fermentación (X3.t), con la composición de

jugo de hoja de banano (X1.JHB) constante (b) analiza el rendimiento respecto a X1.JHB y X3.t, manteniendo X2.JRB constante. (c) muestra la relación entre X1.JHB y X2.JRB, con X3.t constante. Estas visualizaciones ayudan a identificar las condiciones óptimas para maximizar el rendimiento de NCB.

La Figura 15a, muestra que el rendimiento de la NCB incrementa proporcionalmente con el aumento de X1.JHB. Esta relación es positiva y lineal, lo que sugiere que el efecto del jugo de nervadura de banano se mantiene constante dentro del intervalo de valores estudiado. En otras palabras, por cada unidad adicional de X1.JHB, se observa un incremento constante en el rendimiento de la NCB.

La Figura 15b representa la relación entre el rendimiento de la NCB y el X2.JRB, manteniendo las variables X1.JHB y X3.t constantes en sus valores centrales. No se observa una tendencia lineal clara. La curva presenta una forma parabólica, lo que sugiere que el efecto del X2.JRB sobre el rendimiento no es constante y presenta un máximo dentro del rango estudiado.

La Figura 15c muestra la relación entre el rendimiento de la NCB y el X3.t, manteniendo las variables X1.JHB y X2.JRB constantes en sus valores centrales. Se observa una tendencia lineal positiva, lo que indica que el rendimiento aumenta proporcionalmente con el incremento del tiempo de reacción (X3.t) dentro del rango estudiado. Esto sugiere que un mayor tiempo de reacción permite una mejor interacción entre los reactivos, favoreciendo la producción de NCB.



**Figura 16.** Efectos principales de los términos del modelo

La Figura 16 muestra que el rendimiento de NCB incrementa con el aumento de la cantidad de X1.JHB y el X3.t. Además, se observa que el rendimiento disminuye con el incremento de la cantidad de X2.JRB. La magnitud del efecto de este último factor, con un valor de -3, subraya su impacto significativo en la función objetivo. Específicamente, un incremento de una unidad en X2.JRB resulta en una reducción de 3 unidades en dicha función.

Este hallazgo indica que el JRB tiene un efecto negativo sobre el rendimiento de la NCB. Esto se debe a que, agregar una fuente de nitrógeno en exceso conduce a una disminución de la producción de

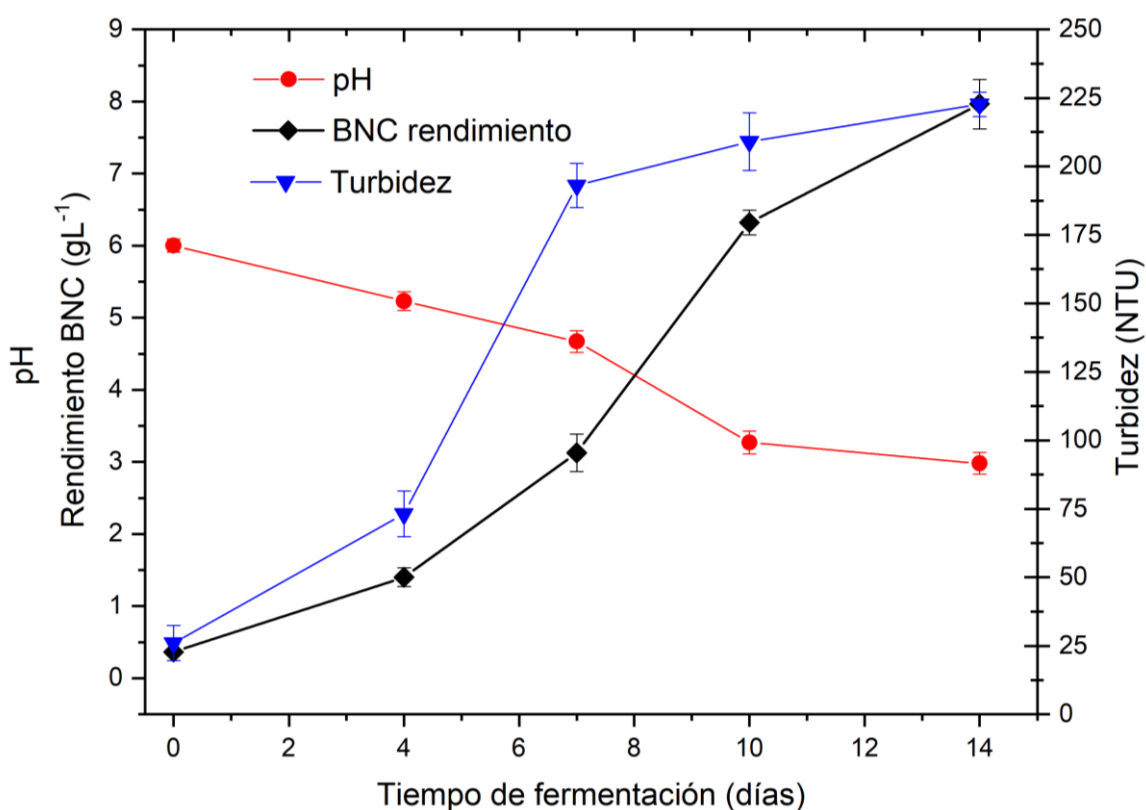
NCB (Son et al., 2003). Basado en el análisis estadístico y el MSR generado, se recomienda concentraciones menores al 0.5% de X2.JRB según lo identificado en el punto estacionario. Por tanto, ajustar X2.JRB a cero puede simplificar experimentalmente las condiciones y permitirá aprovechar al máximo la interacción entre los factores para alcanzar niveles máximos de rendimiento de NCB. Por otro lado, la combinación de azúcares como la glucosa y la fructosa presente en el JHB aceleró el proceso de fermentación (Dáger-López et al., 2024; Fiallos-Cárdenas et al., 2021; Valenzuela-Cobos Et Al., 2024). Por tanto, se utilizarán los siguientes valores como puntos estacionarios: X1.JHB = 40.44%, X2.JRB = 0.00%, y X3.t = 14 días.

En conjunto, los resultados del ANOVA proporcionan evidencia contundente de que el modelo Box-Behnken es altamente efectivo para explicar la variabilidad en el rendimiento de la producción de NCB. Los efectos lineales, las interacciones de segundo orden y los términos cuadráticos son todos significativos, destacando la complejidad de las relaciones entre los factores investigados. Este modelo permite predecir el rendimiento con alta precisión, también optimizar el proceso al identificar los niveles de factores que maximicen la producción de NCB. La robustez estadística del modelo refuerza su aplicabilidad en un contexto industrial y de investigación, ofreciendo una herramienta poderosa para mejorar la eficiencia y la productividad en la producción de NCB (Dwivedi & Sharma, 2015).

El rendimiento de NCB, obtenido en este estudio fue de  $8.1 \text{ g l}^{-1}$ . Son et al., (2001) alcanzaron un rendimiento de 15.2 g/L durante 8 días de fermentación, optimizando las condiciones con glucosa al 4%, extracto de levadura al 0.1%, polipeptona al 0.7%,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  al 0.8%, y etanol al 1.4%. Bae & Shoda, (2005) informaron rendimientos de 14.3 g/L durante 3 días de fermentación, utilizando fructosa al 4.99%, licor de maíz al 2.85%, oxígeno disuelto al 28.33%, y una concentración de agar al 0.38%. Bagewadi et al., (2020) reportaron un rendimiento de 9.2 g/L durante 8 días de fermentación utilizando lactosa al 2%, manteniendo un pH de 7; la temperatura inicial fue de 50 °C durante 3 días y luego se ajustó a 37 °C durante los siguientes 5 días. Aswini et al., (2020) lograron un rendimiento de 469.83 g/l/30 días (peso húmedo) utilizando glicerol al 50 ml/l, extracto de levadura al 7.50 g/l junto con 7.76 g/l de PEG 6000, suplementado con medio Hestrin y Schramm (HS) a pH 6.0 y una temperatura de 33.5 °C. En otro estudio relevante, B. Zhu et al., (2021, pp. 6-5) reportaron un rendimiento de 11.54 g/L durante 7 días de fermentación. Este enfoque integrador entre la optimización de sustratos, condiciones de cultivo y rendimiento de NCB proporciona una base sólida para futuras investigaciones en el campo de la biotecnología de materiales.

#### 4.1.5. Determinación de los parámetros fisicoquímicos y del rendimiento en la producción de nanocelulosa bacteriana en el medio optimizado

Sobre la base de los resultados obtenidos en el diseño Box-Benhken, la producción se escaló a 10 L. Los resultados muestran una disminución progresiva del pH del medio de cultivo con el tiempo (Figura 17). Esta tendencia, observada en medios de fermentación similares al té de kombucha, puede indicar una intensa actividad metabólica, asociada con la producción de ácidos orgánicos tales como acético, D-glucurónico, láctico, tartárico y cítrico. Estudios previos han sugerido que estos ácidos se generan durante el proceso fermentativo (Aditiawati et al., 2023; Fiallos-Cárdenas et al., 2021; Manan et al., 2022).



**Figura 17.** Cinética de la producción de nanocelulosa bacteriana: variaciones de pH y turbidez en el medio de cultivo en un biorreactor de 10 litros, cultivo en lote a 30 °C y 1 atmósfera.

La turbidez del medio de cultivo optimizado experimentó un aumento significativo durante los primeros siete días de fermentación, manteniéndose estable a partir de entonces. Durante la fase inicial, las bacterias incrementan su población utilizando oxígeno, lo que genera celulosa y, por ende, aumenta la turbidez. Tras el agotamiento del oxígeno, las bacterias en la superficie continúan produciendo celulosa bacteriana, alcanzando un estado de equilibrio, mientras que las bacterias sumergidas en el medio de fermentación se vuelven inactivas. Estas últimas pueden reactivarse para futuros cultivos (Aditiawati et al., 2023). En bebidas análogas a la kombucha, la turbidez se asocia con el crecimiento microbiano, donde la presencia de *Komagataeibacter*, predominante en el cultivo inicial, induce la producción de



celulosa, afectando directamente la turbidez (Hatiboruah et al., 2020; Leonarski et al., 2021).

La formación de NCB se manifiesta inicialmente como una capa delicada, que se engrosa progresivamente a lo largo del proceso de fermentación, siendo perceptible a partir del cuarto día. Al día 14, se alcanzó un rendimiento promedio de 8,82 g/L de NCB en peso seco, lo que representa resultados prometedores. En contraste, estudios anteriores reportaron un rendimiento de 0,031 g/g a los 21 días (Neves et al., 2022), mientras que otros alcanzaron hasta 6,4 g/L de NCB en masa seca después de 21 días (Dartora et al., 2023). La producción de NCB a partir de diversas materias primas, como extracto de jugo de acerola y residuos industriales, rindió 2,9 g/L después de 12 días de fermentación (Hamed et al., 2022). De manera similar, la producción de NCB en medios de té negro registró 3,06 g/L en peso seco (Manan et al., 2022).

La utilización del jugo de hoja de banano y la infusión de té verde arrojó resultados alentadores, atribuidos a la riqueza en nutrientes, vitaminas, polifenoles y fitoquímicos presentes en estas infusiones. Este enfoque estratégico redujo la necesidad de fuentes adicionales de nitrógeno, traducándose en una disminución de costes (Dartora et al., 2023). Este éxito se puede atribuir a la explotación de las relaciones simbióticas entre las bacterias dentro del SCOBY. Según, Z.-Y. Li et al., (2021) las cepas individuales que producen NCB demostraron un rendimiento del 3,0 al 4,1%, mientras que el cultivo simbiótico logró una producción de NCB que osciló entre el 6,3% y el 10,0%, subrayando una mejora sustancial en la eficiencia.

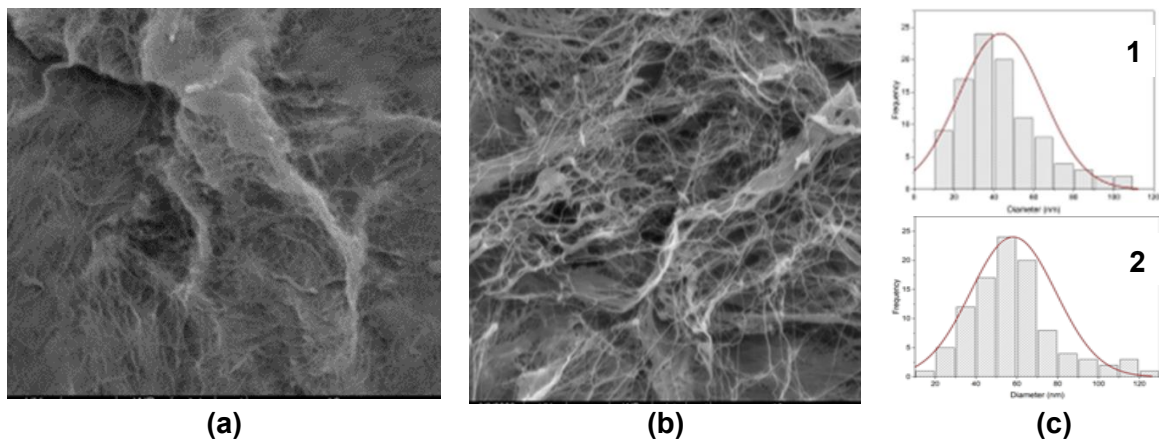
La selección de biomasa residual como materia prima no solo satisface los requisitos técnicos para la producción de NCB, sino que también garantiza la sostenibilidad al mitigar la competencia con los recursos alimentarios. Este enfoque estratégico presenta perspectivas prometedoras para la producción eficiente y rentable de NCB con aplicaciones especializadas.

#### **4.1.6. Caracterización fisicoquímica de la nanocelulosa bacteriana mediante microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), análisis termogravimétrico (TGA) y difracción de rayos X (XRD)**

##### **Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

Se utilizó SEM para examinar la morfología microscópica de las muestras de NCB. Figura 18 a y b ilustran la morfología de la NCB producida tanto en el medio de control HS (HS-NCB) como en el medio optimizado (B.B-NCB), respectivamente. La NCB se purificó mediante un tratamiento con NaOH, seguido de un lavado exhaustivo con agua para eliminar todas las impurezas y células bacterianas (Dáger-López

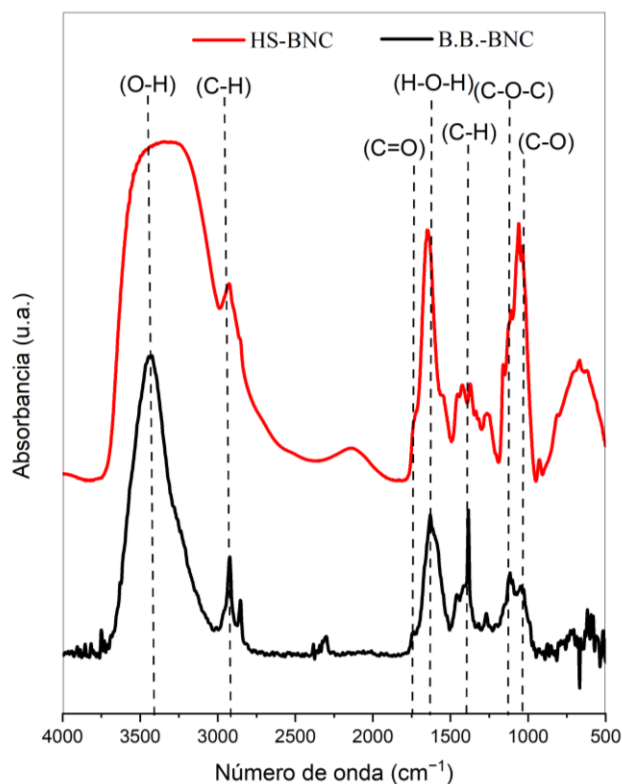
et al., 2024; Fiallos-Cárdenas et al., 2021). La microestructura reveló una red de fibrillas de celulosa en ambas muestras de NCB. Las imágenes muestran la disposición de las NCB en una red de capas con microfibrillas de celulosa orientadas aleatoriamente. Figura 18 c1, En el caso de HS-NCB, los diámetros de las microfibrillas varían de 23.9 nm a 119.2 nm, con un promedio de 43.5 nm, lo cual concuerda con hallazgos previos (Lee et al., 2024; Z.-Y. Li et al., 2021). Por el contrario, Figura 18 c2, el B.B-NCB presentó diámetros que oscilaron entre 28.7 nm y 120.0 nm, con una media de 58.23 nm. Estos resultados sugieren un mayor diámetro medio de fibra en el medio B.B-NCB, conclusión apoyada por investigaciones previas centradas en la evaluación de residuos industriales (Akintunde et al., 2022; Feng et al., 2024; Khattak et al., 2015). La densidad, el tamaño y la disposición de las fibrillas de NCB dependen principalmente de la composición del medio, la viscosidad y la actividad de las bacterias productoras de NCB (Akintunde et al., 2022; Khattak et al., 2015; Ul-Islam et al., 2012).



**Figura 18.** Imágenes SEM de las membranas nanocelulosa bacteriana. Distribución de diámetro y distribución estándar para: (a) medio de control HS, y (b) medio optimizado por diseño Box-Behnken. (c) Tamaño de partícula c.1 medio HS, c2 medio Box-Behnken.

### **Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)**

El estudio utilizó análisis de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) para evaluar las características estructurales de las membranas HS-NCB y B.B-CB producidas bajo diferentes condiciones nutricionales. Los resultados revelaron bandas características asociadas a la celulosa tipo I. La Figura 19 muestra espectros FT-IR similares entre HS-NCB y B.B-NCB, con un pico en la región de  $3300-3412\text{ cm}^{-1}$ , indicando las vibraciones de estiramiento de -OH, típicas de la celulosa tipo I (Pacheco et al., 2017; Taokaew et al., 2013). A pesar de esta similitud, se observó una variación en la intensidad máxima de B.B-NCB en esta región, sugiriendo una modificación en la interacción del enlace de hidrógeno. Esta alteración se atribuye tanto a la influencia de los hidratos de carbono en el medio de cultivo (Ghozali et al., 2024; Hamed et al., 2022) como a la presencia de agua adsorbida (El-Shall et al., 2023; Fatima et al., 2022).



**Figura 19.** Caracterización de nanocelulosa bacteriana: espectros de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier. La línea roja representa el espectro NCB obtenido en el medio de control HS, mientras que la línea negra representa el espectro NCB obtenido en el medio optimizado. Obsérvese las coincidencias en los primeros tres picos (de izquierda a derecha) de ambas curvas.

Las muestras también presentaron otras bandas relevantes, como las correspondientes al estiramiento CH de grupos  $\text{CH}_2$  alrededor de  $2893\text{ cm}^{-1}$ , específico de la celulosa tipo I (Khattak et al., 2015), y el  $\text{CH}_2$  asimétrico estiramiento a  $2854\text{ cm}^{-1}$  (Cerrutti et al., 2016), que representa la vibración de estiramiento C-H de los anillos de azúcar (Akintunde et al., 2022). En el caso de B.B.-NCB, la detección simultánea de ambas bandas sugiere una influencia probable de la composición del sustrato de azúcar en el proceso de fermentación. Investigaciones previas han mostrado cómo diferentes fuentes de carbono pueden afectar el espectro de la muestra de NCB (Hamed et al., 2022; Thorat & Dastager, 2018). Además, se observaron bandas prominentes alrededor de  $2250\text{ cm}^{-1}$ , correspondientes al estiramiento de CN (Jiamsawat et al., 2022), lo que podría indicar una asociación con la presencia de carbohidratos y compuestos nitrogenados en los ingredientes del medio de fermentación (Ghozali et al., 2024; Hamed et al., 2022; Nguyen et al., 2021; Pereira et al., 2024). Se observaron también una banda de absorción a  $1650,5\text{ cm}^{-1}$ , atribuida a la presencia del grupo funcional carboxilo (C=O), y una banda alrededor de  $1642\text{ cm}^{-1}$ , atribuida a la flexión H-O-H debido a la adsorción de agua (M. Z. Amin et al., 2019; Nguyen et al., 2021).

Los espectros de ambas muestras mostraron señales características de celulosa tipo I. Bandas

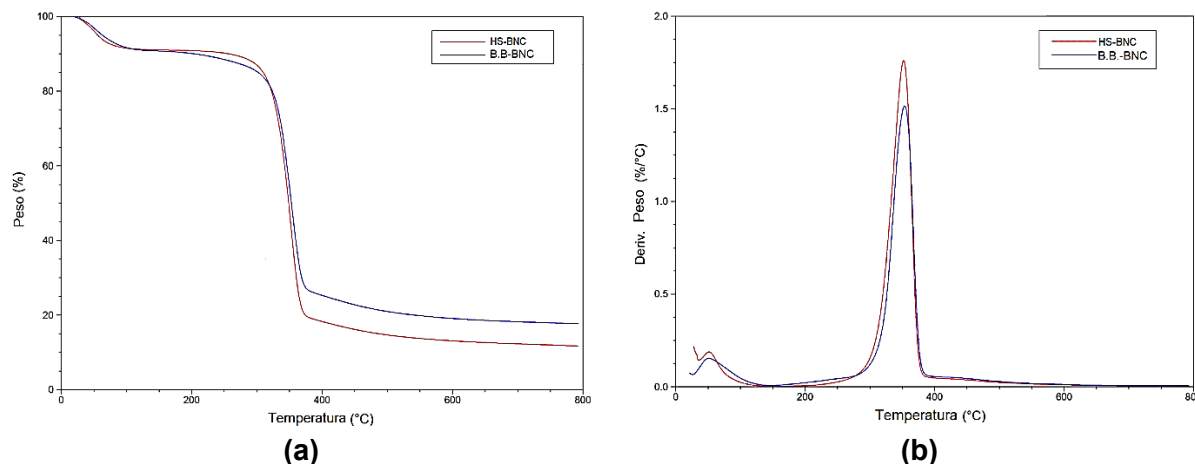
fuertes a  $1425\text{ cm}^{-1}$  se observaron en el espectro de la celulosa, asignadas a la flexión simétrica  $\text{CH}_2$ . Una banda a  $1160\text{ cm}^{-1}$  indicó un estiramiento asimétrico C-O-C en el enlace  $\beta$ -glicosídico (Akintunde et al., 2022; Hamed et al., 2022), y un máximo a  $1068\text{ cm}^{-1}$  correspondió al estiramiento simétrico C-O del alcohol primario. Las diferencias entre B.B-NCB y HS-NCB pueden atribuirse a los carbohidratos y compuestos fenólicos presentes en el medio de fermentación. Estos compuestos fenólicos pueden combinarse con la celulosa in situ durante la fermentación, explicando así los cambios observados (Z.-Y. Li et al., 2021; Phan et al., 2017).

### **Análisis termogravimétrico (TGA)**

La estabilidad térmica de los NCB producidos en el medio de control (HS-NCB) y en el medio optimizado (B.B-NCB) se evaluó mediante TGA, cuyos resultados se presentan en la Figura 20a, y el análisis termogravimétrico diferencial (DTG), ilustrado en la Figura 20b. Ambas muestras de NCB mostraron curvas similares con tres etapas distintas de pérdida de masa. Inicialmente, se observó una disminución marginal en el peso hasta aproximadamente  $150\text{ }^\circ\text{C}$ , atribuida a la evaporación del agua durante el tratamiento térmico inicial. El proceso de degradación térmica se desarrolló en dos etapas discernibles, la segunda etapa se produjo entre  $240$  y  $425\text{ }^\circ\text{C}$  y estuvo estrechamente relacionada con la degradación de la celulosa. Esta etapa implicó la despolimerización, deshidratación y descomposición de las unidades de glucosa, culminando en la formación de un residuo carbonoso (Öz & Kalender, 2023). Resultó en una pérdida de peso de aproximadamente  $56,56\%$  y  $50,02\%$  en HS-NCB y B.B-NCB, respectivamente. La etapa final, alcanzando los  $800\text{ }^\circ\text{C}$ , mostró una reducción de peso de  $15,3\%$  y  $18,6\%$  en HS-NCB y B.B-NCB, respectivamente. En general, la muestra experimentó una pérdida de masa agregada del  $82,09\%$  de su peso inicial.

Estudios previos han indicado que la pérdida de masa de celulosa bacteriana suele oscilar entre el  $70\%$  y el  $95\%$ , dependiendo de la cepa bacteriana responsable de la producción de celulosa (S.-P. Lin et al., 2016; Machado et al., 2018; Skiba et al., 2023). La muestra de HS-NCB demostró una disminución del residuo en TGA en comparación con la B.B.-NCB atribuible a las distinciones en la composición del medio y la estructura de los NCB producidos (Thorat & Dastager, 2018). En las curvas DTG, las temperaturas máximas de descomposición ( $T_{\text{max}}$ ) para HS-NCB y B.B-NCB fueron de  $352,24$  y  $355,51\text{ }^\circ\text{C}$ , respectivamente. Una ligera desviación en la temperatura de degradación podría atribuirse a variaciones en el tamaño, la disposición y la compacidad de las fibrillas de NCB (UI-Islam et al., 2012). Los resultados de DTG se alinearon con los hallazgos de XRD, ya que se ha informado que una mayor cristalinidad mejora la estabilidad térmica de NCB (Naeem et al., 2022). Los hallazgos de TGA para

ambos medios de cultivo revelaron patrones similares, consistentes con los resultados de estudios previos (Fiallos-Cárdenas et al., 2021; Jiamsawat et al., 2022; Lee et al., 2024; Yang et al., 2024).

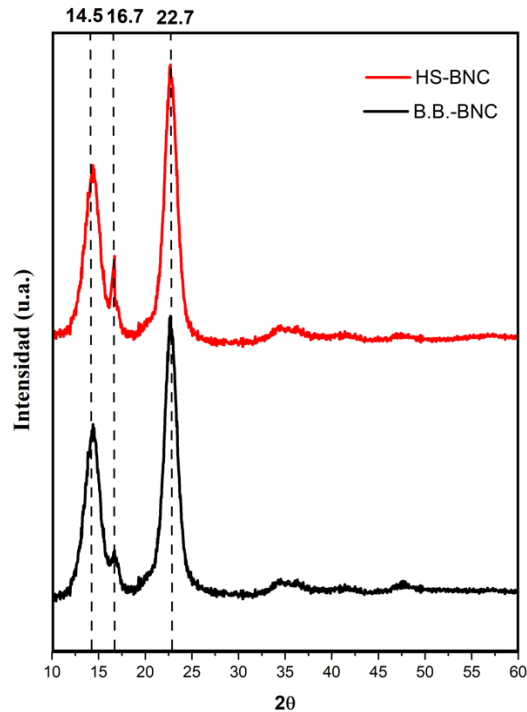


**Figura 20.** (a) Curva de análisis termogravimétrico y (b) curva termogravimétrica derivada de la NCB obtenida en el medio de cultivo control (HS) y el medio alternativo optimizado Box-Behnken.

### Difracción de rayos X (XRD)

NCB es un compuesto macromolecular policristalino homogéneo que consta de una región cristalina ordenada y una región amorfa desordenada (French, 2014). Su notable cristalinidad, en comparación con la celulosa vegetal, sirve como atributo distintivo (Lee et al., 2024). Dentro de la región cristalina ordenada, varias muestras de NCB exhiben picos amplios y robustos a  $2\theta = 14,5^\circ$  y  $22,7^\circ$ , valores consistentes con investigaciones previas (Fan et al., 2016; Feng et al., 2024; Lee et al., 2024). Los patrones XRD muestran tres reflexiones en 14.5, 16.7 y 22.7, respectivamente. Ver Figura 21.

Representa picos de difracción típicos de celulosa tipo I y refleja la estructura cristalina y amorfa de los componentes NCB. Estos resultados muestran similitudes con estudios previos (Du et al., 2018; Gomes et al., 2013). El Índice de cristalinidad (CrI) se erige como un parámetro crucial para el NCB y sus compuestos derivados (French & Santiago Cintrón, 2013). De acuerdo con la fórmula de Segal, la cristalinidad del B.B-NCB producido en el medio optimizado alcanzó el 83,5%, superando a la del HS-NCB producido en el medio HS (79,5%). Estos hallazgos sugieren que el NCB del medio optimizado con JHB tiene el mayor contenido de celulosa I $\alpha$ , mientras que el NCB del medio HS tiene el menor contenido de celulosa I $\alpha$ . Varios factores, como los métodos de cultivo, las fuentes de carbono, el pH del medio, la velocidad de agitación, la temperatura, el tiempo de cultivo, los aditivos y los métodos de secado, podrían influir en la cristalinidad del NCB (Jung et al., 2010). También se considera la posible relación con la degradación del NaOH, ya que este proceso de degradación inicia la descomposición del polímero y facilita la hidrólisis de la celulosa (Leonarski et al., 2021, 2023).



**Figura 21.** Diffractograma de rayos X de nanocelulosa bacteriana en el medio optimizado a partir del diseño Box-Behnken (línea negra), y nanocelulosa bacteriana en el medio HS-NCB (línea roja).

## **4.2. Empleo de la nanocelulosa bacteriana como reemplazo parcial de material de empaque.**

### **4.2.1. Análisis proximal de la cáscara de banano**

El análisis químico y elemental de la cáscara de banano ha revelado la presencia de lípidos, carbohidratos, proteínas, fibras crudas, azúcar soluble en agua, y minerales. Ver Tabla 13. Los resultados de la composición proximal muestran las características distintivas que pueden influir en su aplicación y valor nutricional (Bishnoi et al., 2023; Kiran V et al., 2022; Naveen et al., 2023).

El contenido elevado de cenizas sugiere una notable concentración de minerales inorgánicos en la HCB. Estos minerales pueden incluir potasio, calcio, magnesio y fósforo (Kiran V et al., 2022; Sijabat et al., 2019). También exhibe un contenido significativo de Humedad y fibra bruta.

La composición de proteínas y lípidos, son bajos en comparación con otros alimentos proteicos y grasos, estos componentes son importantes para la funcionalidad y el perfil nutricional de la harina. Estos resultados se alinean con los reportados por Puraikalan, (2018). La composición de los residuos de cáscara de fruta varía en función de factores como la especie y la temporada, siendo la grasa, varios extractos y polifenólicos la parte restante (Abera et al., 2023; Bishnoi et al., 2023).

**Tabla 13** Composición proximal de la harina de cáscara de banano orgánico de rechazo (promedio de

n=X)

Parámetros (%)	Valores
Cenizas	8.30±0.6
Humedad	13.77±0.2
Proteína bruta	4.45±0.7
Lípidos	3.85±0.65
Fibra bruta	23.45±0.83
Materia orgánica	85.17±0.42
Hidratos de carbono	43.51±0.26

#### 4.2.2. Caracterización del almidón extraído de la cáscara de banano y comerciales

El rendimiento de almidón obtenido de la cáscara de banano (ACB) fue del 19,6%, mientras que estudios previos han reportado valores en un rango del 11% al 30% (Abera et al., 2023; Chandrasekar et al., 2023). La prueba de Lugol demostró uniformemente un color violeta azulado en todos los almidones analizados, indicativo de la presencia de amilosa y amilopectina, componentes estructurales fundamentales del almidón vegetal (Ferreira et al., 2020; Sinanoglou et al., 2023; Y. Zhang et al., 2014).

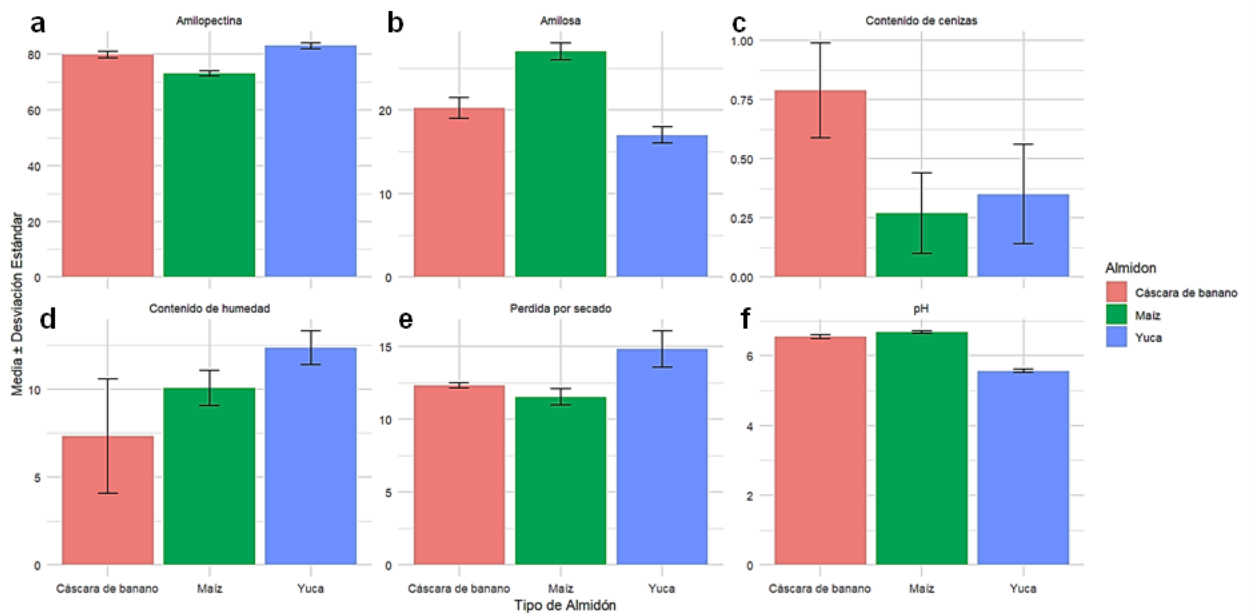
El análisis del pH reveló variaciones significativas entre los almidones. El ACB y el de maíz mostraron pH ligeramente ácidos, mientras que el almidón de yuca presentó un pH más bajo. Esta diferencia puede atribuirse a la presencia de ácidos orgánicos residuales en el almidón de yuca, lo cual puede influir en sus propiedades funcionales y en su comportamiento durante el procesamiento (Abera et al., 2023; Y. Zhang et al., 2014).

El contenido de humedad mostró que el almidón de yuca tenía el mayor contenido, seguido por el almidón de maíz y el de cáscara de banano. Esta variabilidad podría ser atribuida a factores como la madurez de las materias primas y las condiciones de secado, aspectos críticos que afectan la estabilidad y la vida útil de los almidones (Chandrasekar et al., 2023; Ramli et al., 2020).

En cuanto a la pérdida por secado, el almidón de yuca exhibió la mayor pérdida, lo que sugiere una mayor cantidad de componentes volátiles o agua libre en comparación con los otros almidones estudiados. Esta observación es crucial ya que la pérdida por secado influye directamente en las propiedades de gelatinización y en la estabilidad del almidón durante el almacenamiento (Singh et al., 2003). El contenido de cenizas fue más elevado en el ACB, indicando una mayor presencia de minerales (Abera et al., 2023; Chandrasekar et al., 2023; Ferreira et al., 2020).

El análisis de la composición de amilosa y amilopectina mostró diferencias significativas entre los almidones estudiados. El almidón de maíz presentó el mayor contenido de amilosa, mientras que el de yuca exhibió un contenido superior de amilopectina. Estas diferencias tienen implicaciones directas en las propiedades funcionales del almidón, como la capacidad de gelificación y la retrogradación,

determinantes en su uso industrial. El ACB mostró un contenido moderado de amilosa (10-30%), siendo rico en amilopectina. La amilopectina desempeña un papel importante en la unión de polímeros lineales para la creación de material de envasado flexible (Ferreira et al., 2020). La presencia de un mayor porcentaje de amilopectina amorfa ramificada en el ACB puede ser adecuada para el desarrollo de material termoplástico estable (Abera et al., 2023). Los valores obtenidos en este estudio sobre la amilosa y amilopectina en el ACB son consistentes con los reportados por Chandrasekar et al., (2023). Ver Figura 22.



**Figura 22.** Características físico-químicas del almidón de cáscara de banano orgánico de rechazo obtenido y distintos almidones comerciales de otras fuentes (maíz y yuca). Contenidos de amilopectina (%) (a), amilosa (%) (b), cenizas (%) (c), y humedad (%) (d), pérdida por secado (%) (e), y pH (f).

Los materiales biodegradables a base de almidón, derivados de cultivos como los cereales y el maíz, conducen a un desperdicio de alimentos desfavorable en el contexto de la actual escasez alimentaria. Por ello, es fundamental desarrollar plásticos ecológicos, económicos, de alta calidad y biodegradables a partir de biomasa residual (Bangar et al., 2022; Yu et al., 2023).

#### 4.2.3. Diseño de mezclas para la obtención de películas a base de PEBD, NCB y ACB

Para la formulación de la película de base biológica con propiedades optimizadas se ha utilizado un diseño simplex centroide para evaluar el efecto combinado de la nanocelulosa bacteriana (NCB), el almidón de cáscara de banano (ACB) y el polietileno de baja densidad (PEBD) en el módulo de tracción (MPa) de las películas obtenidas. La tabla 14 presenta los resultados experimentales y las predicciones obtenidas a partir del modelo de regresión ajustado. Ver Tabla 14.



**Tabla 14.** Diseño de mezcla simplex centroide con tres componentes para la obtención de biopelículas

Mezcla	X1	X2	X3	Resistencia a la tracción (MPa)	
				Real	Predicción
1	1	0	0	11,01±0,02	11,00
2	0	1	0	15,10±0,02	15,00
3	0	0	1	10,03±0,02	10,00
4	0,5	0,5	0	16,04±0,02	16,40
5	0,5	0	0,5	17,15±0,02	17,00
6	0	0,5	0,5	13,10±0,02	13,00
7	0,33	0,33	0,33	18,14±0,02	18,32
8	0,33	0,33	0,33	19,10±0,02	18,32
9	0,33	0,33	0,33	18,10±0,02	18,32

X1= Nanocelulosa bacteriana, X2= Almidón de cáscara de banano, X3: Polietileno de baja

densidad.

El modelo de regresión ajustado para predecir el módulo de tracción (MPa) de las películas basadas en NCB, ACB y PEBD es el que se muestra en la ecuación (22):

$$\text{Resistencia a la tracción (MPa)} = 11,000 \cdot X1 + 15,000 \cdot X2 + 10,000 \cdot X3 + 13,602 \cdot X1 \cdot X2 + 26,002 \cdot X1 \cdot X3 + 1,999 \cdot X2 \cdot X3 + 53,260 \cdot X1 \cdot X2 \cdot X3 \quad (22)$$

El análisis de regresión revela que los componentes NCB, ACB y PEBD, tanto individualmente como en combinación, influyen significativamente en el módulo de tracción de las películas desarrolladas. La NCB y el ACB, en particular, exhiben los efectos más notables, lo cual es coherente con su comportamiento como biopolímeros reforzantes y filmogénicos. Los coeficientes de regresión, sus errores estándar, valores t y valores p, mostrando la significancia de cada factor y sus interacciones. Ver Tabla 15.

**Tabla 15.** Análisis de regresión para la producción de películas basadas en NCB, ACB, y PEBD

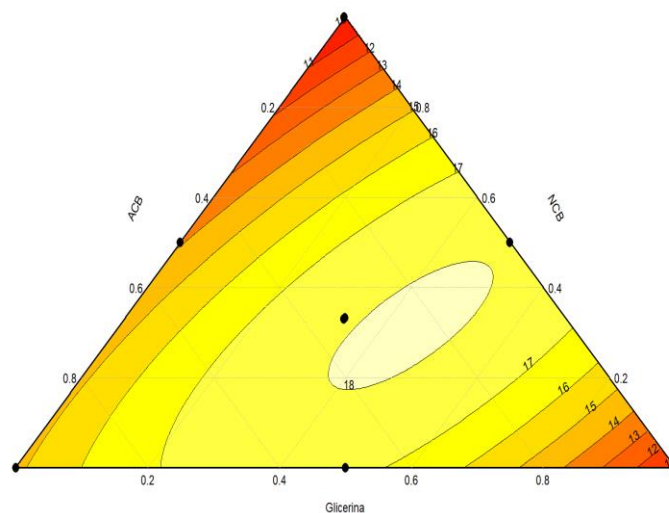
Factores	Coficiente	Error Estándar	Valor - t	Valor-p	
X1	11,000	0,521	21,113	<0.01	Significativo
X2	15,000	0,521	28,789	<0.01	Significativo
X3	10,000	0,521	19,193	<0.01	Significativo
X1:X2	13,602	2,553	5,329	<0.05	Poco Significativo
X1:X3	26,002	2,553	10,187	<0.01	Significativo
X2:X3	1,999	2,553	0,783	<0.05	Poco Significativo
X1:X2:X3	53,260	13,915	3,828	<0.05	Poco Significativo

X1= Nanocelulosa bacteriana, X2= Almidón de cáscara de banano, X3: Polietileno de baja densidad.

El modelo de regresión ajustado muestra un error estándar residual de 0.521 y un R<sup>2</sup> múltiple de 0.9998, indicando un ajuste casi perfecto a los datos observados. El R<sup>2</sup> ajustado de 0.9989 corrobora la

robustez del modelo al considerar el número de predictores. El estadístico F de 1156 con un valor p de 0.0008649 muestra una significancia global del modelo, confirmando que al menos uno de los coeficientes de regresión es distinto de cero. Estos resultados indican que el modelo proporciona una predicción precisa del módulo de tracción basado en las proporciones de NCB, ACB y PEBD, así como sus interacciones.

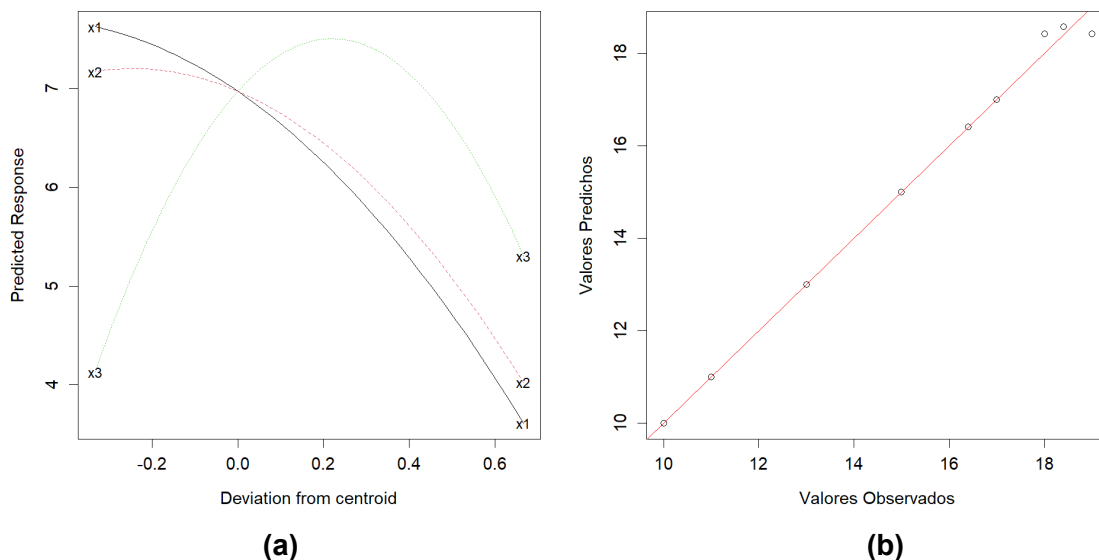
El gráfico de contorno, Ver Figura 23. Muestra que los niveles óptimos se encuentran en las siguientes condiciones, 40% de nanocelulosa bacteriana, 30% de almidón de cáscara de banana, y 30% de polietileno de baja densidad al reemplazar en la ecuación (18) se obtiene un módulo de tracción de 18,75 MPa.



**Figura 23.** Gráfica de contorno de mezcla que muestra el efecto de las variables en la resistencia a la tracción de la nueva mezcla de película plástica. El gráfico muestra un triángulo que representa las proporciones de las tres variables de mezcla. Dentro del triángulo, las curvas de contorno indican cómo varía la resistencia a la tracción en función de las diferentes combinaciones de las variables. Estas curvas permiten identificar las combinaciones óptimas para maximizar la resistencia a la tracción de la película plástica.

El gráfico de efectos (Effect Plot) es una herramienta gráfica que se utiliza para visualizar el efecto individual y conjunto de los factores en una respuesta. Ver Figura 24a. El gráfico muestra cómo la cantidad de NCB (X1), ACB (X2) y PEBD (X3) afecta la producción del polímero. El eje X, representa la desviación del centroide para cada factor. El centroide es el punto que representa la combinación media de los factores. Las desviaciones del centroide se muestran en unidades de desviación estándar. El eje Y representa la respuesta, en este caso, la resistencia a la tracción del polímero.

Es importante tener en cuenta que la interpretación del gráfico de efectos debe realizarse en conjunto con el análisis de regresión. Ver Figura 24b. El análisis de regresión proporciona información adicional sobre la importancia de los factores y las interacciones, así como la magnitud de sus efectos.



**Figura 24.** Gráfica de resultados para diseño simplex centroide a) Efecto, b) Análisis de regresión.

La formulación en peso es de 27% NCB, 21,50% ACB, 21,50% PEBD, 27,50% glicerina, 1,00% ácido acético, 0,50% de agua, la formulación dio como resultado un módulo de tracción de 18,98 MPa. En este contexto, se estima que la membrana NCB bajo tracción tiene un módulo de Young de  $1090 \pm 410$  kPa, un alargamiento a la rotura de  $50 \pm 10$  % y una resistencia máxima a la tracción de  $270 \pm 80$  kPa (Chaussé et al., 2024). Por otro lado, las mediciones típicas de resistencia a la tracción para el PEBD suelen estar en el rango de 7 a 20 MPa, dependiendo de las condiciones específicas de prueba y la formulación exacta del material (Jebashalomi et al., 2024; Nwuzor et al., 2023).

Heidarian et al., (2018) reportaron un compuesto degradable hecho de celulosa extraída de caña de azúcar y PLA con el módulo de Young de 716,5 MPa, el cual se degradó en más de dos meses. Sin embargo, la adición de PLA en el plástico biodegradable de dos componentes aumenta el costo de producción. M. R. Amin et al., (2019) produjeron bioplásticos a partir de almidón, vinagre y glicerol, obteniendo una resistencia a la tracción entre 3.55 y 3.95 MPa. La adición de NCB ( $\geq 5\%$  p/p) y ácido gálico (1 y 1.5% p/p) mejoró tanto las propiedades mecánicas (módulo de Young: 1.2-2.0 GPa frente a 1.0 GPa para almidón termoplástico; resistencia a la tracción: 23-39 MPa frente a 20 MPa para almidón termoplástico) como la resistencia al agua (absorción de humedad y solubilidad en agua) de los nanocompuestos (Almeida et al., 2023).

Por otro lado, el bioplástico reforzado con NCB sintetizada a partir de plumas de pollo digeridas enzimáticamente mostró una resistencia a la tracción notable de 5.769 MPa, indicando que la NCB actúa como un estabilizador efectivo (Admasie et al., 2024). Además, el uso de solución de etilcelulosa (EC) elimina la necesidad de aglutinantes adicionales. Sorprendentemente, el material EC-NCB presenta excelentes propiedades mecánicas, con una resistencia a la tracción de  $195,3 \pm 23,2$  MPa (Deng et al.,

2024). Asimismo, los compuestos NCB-pectina cítrica revelaron la formación óptima de película con una microestructura densa y homogénea, y una resistencia mecánica mejorada de 126.37 MPa a 183.24 MPa (Muhammed et al., 2024).

Las investigaciones actuales destacan el potencial de la NCB para mejorar las propiedades mecánicas de los bioplásticos. La diferencia en los resultados obtenidos con los revisados en la literatura científica podría atribuirse a variaciones en el procesamiento y fabricación de los bioplásticos, que pueden influir significativamente en su resistencia a la tracción. Factores como el método de mezclado, la temperatura de procesamiento y el tiempo de curado son críticos para determinar las propiedades finales del material (Almeida et al., 2023; Ghozali et al., 2024; Taokaew et al., 2013).

#### **4.2.4. Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de la biopelícula optimizado**

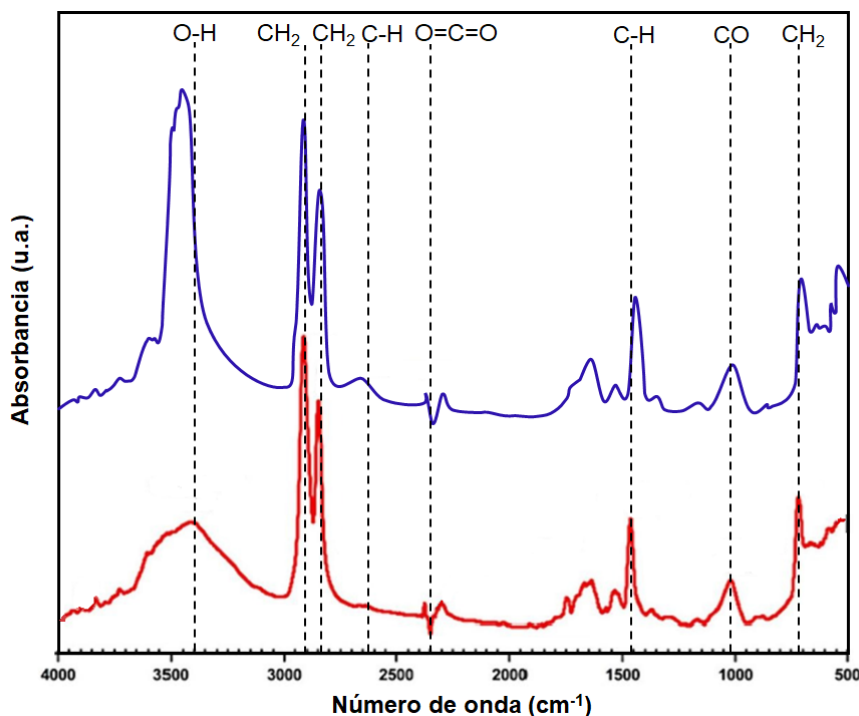
##### **Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)**

El espectro FTIR del PEBD y del bioplástico optimizado mediante DSC se presenta en la Figura 25. Las bandas de absorción de PEBD y el de NCB-DSC detectada en  $3294.87\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la vibración de estiramiento de los grupos hidroxilo (-OH), atribuida al estiramiento vibracional complejo presente en la estructura de los carbohidratos (N. F. K. Sultan & Johari, 2017). Los picos agudos a  $2920,31\text{ cm}^{-1}$  y  $2853,5\text{ cm}^{-1}$  corresponden al estiramiento C-H, asociado con los grupos  $\text{CH}_2$  en la estructura del almidón y con variaciones en las proporciones de amilosa y amilopectina en el ACB (Orsuwan & Sothornvit, 2018). Según Chandrasekar et al., (2023) la nitidez de los picos en el rango de  $2853,5\text{ cm}^{-1}$  aumenta respecto a la concentración de ACB. Los picos observados en los números de onda entre  $1590\text{ cm}^{-1}$  y  $1720\text{ cm}^{-1}$  se atribuyen a la deflexión del agua de los grupos OH, específicamente al modo de flexión de los grupos hidroxilo en las moléculas de agua. Otros picos en  $1423\text{ cm}^{-1}$  corresponden a la flexión O-H, mientras que aquellos que alcanzan su punto máximo entre  $1320$  y  $1380\text{ cm}^{-1}$  corresponden a las vibraciones de flexión de  $\text{CH}_2$  en la película de plástico biodegradable (Chandrasekar et al., 2023; N. F. K. Sultan & Johari, 2017).

Además, los picos en  $1249,51\text{ cm}^{-1}$  y  $1088,41\text{ cm}^{-1}$  representan vibraciones de estiramiento de C=O, C-O-H y C-C (Jumaidin et al., 2016; Yun et al., 2008). La película de NCB-DSC mostraron un aumento adicional en la intensidad de la banda característica a  $1022\text{ cm}^{-1}$  (Correspondiente a enlaces glucosídicos), que también pueden atribuirse a la naturaleza altamente cristalina de las fibras de nanocelulosa (Chandrasekar et al., 2023). Mientras, un pico que oscila entre los  $945,86\text{ cm}^{-1}$  hasta  $835,70\text{ cm}^{-1}$  está relacionado con la sensibilidad al agua y los enlaces de hidrógeno intramoleculares de

los grupos hidroxilo (Orsuwan & Sothornvit, 2017). Finalmente, la banda de absorción en el rango de 480 a  $410\text{ cm}^{-1}$  especifica la extensión y flexión de  $\text{C}=\text{C}$  y  $=\text{C}-\text{H}$ , respectivamente.

Estas características espectrales pueden ser causadas por diferentes interacciones de enlaces de hidrógeno influenciadas por polímeros miscibles, lo que provoca cambios y ampliaciones en el espectro FTIR, facilitando su reconocimiento y comparación con el espectro de PEBD (N. F. K. Sultan & Johari, 2017; Zuraida et al., 2012).



**Figura 25.** Espectros FTIR del polietileno de baja densidad usado como estándar de la industria (rojo) y de la biopelícula desarrollada en este trabajo (azul).

### **Análisis termogravimétrico (TGA)**

La estabilidad térmica del PEBD y del bioplástico se evaluó mediante TGA, cuyos resultados se presentan en la Figura 26. El PEBD y el bioplástico muestran diferentes comportamientos de degradación térmica.

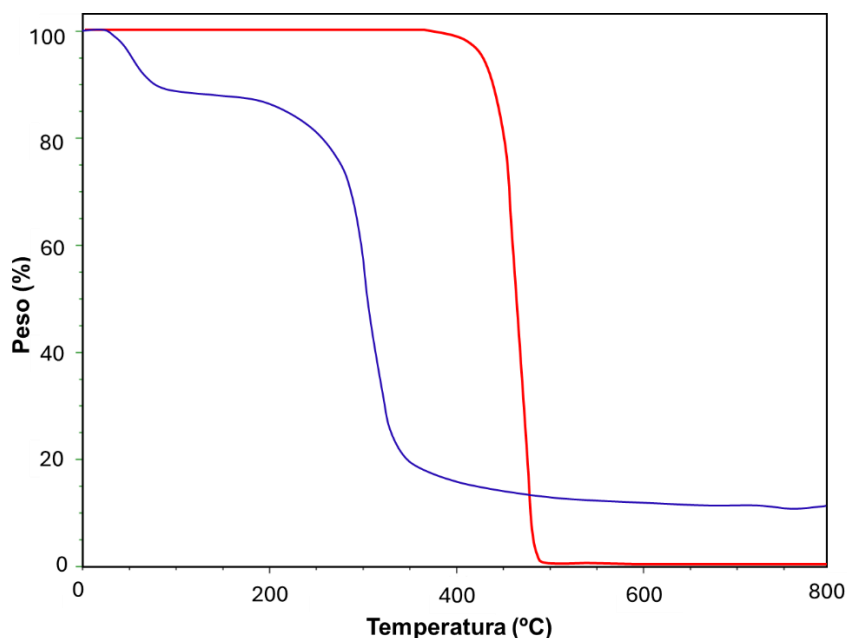
El PEBD exhibió dos etapas de pérdida de peso: la primera etapa ocurrió a  $424.01^{\circ}\text{C}$  y la segunda a  $457.75^{\circ}\text{C}$ . Estas etapas están asociadas con la degradación térmica de los componentes del PEBD, donde la primera etapa corresponde a la descomposición inicial de las cadenas poliméricas y la segunda etapa se relaciona con la descomposición completa del material, resultando en una pérdida significativa de masa (Nwuzor et al., 2023).

En contraste, la muestra de bioplástico mostró tres etapas distintas de pérdida de masa. Inicialmente, se observó una disminución marginal en el peso hasta aproximadamente  $53^{\circ}\text{C}$ , atribuida a

la evaporación del agua durante el tratamiento térmico inicial. La primera etapa de degradación significativa ocurrió entre 200°C y 310.87°C, vinculada estrechamente con la degradación de la celulosa. Durante esta etapa, se produjo la despolimerización, deshidratación y descomposición de las unidades de glucosa, culminando en la formación de un residuo carbonoso (Öz & Kalender, 2023).

La segunda etapa de degradación del bioplástico, observada a temperaturas más altas, refleja la descomposición de otros componentes orgánicos presentes en la formulación, posiblemente debido a la presencia de glicerina y otros aditivos que afectan la estabilidad térmica del material (Almeida et al., 2023).

La diferencia en los comportamientos de degradación térmica entre el PEBD y el bioplástico destaca la influencia de la composición material en la estabilidad térmica (Nwuzor et al., 2023). Mientras que el PEBD muestra una mayor estabilidad térmica con temperaturas de degradación superiores a 400°C, el bioplástico, compuesto principalmente de celulosa y otros biopolímeros, comienza su degradación a temperaturas más bajas debido a la menor estabilidad térmica de los enlaces biopoliméricos en comparación con los enlaces poliméricos del PEBD.



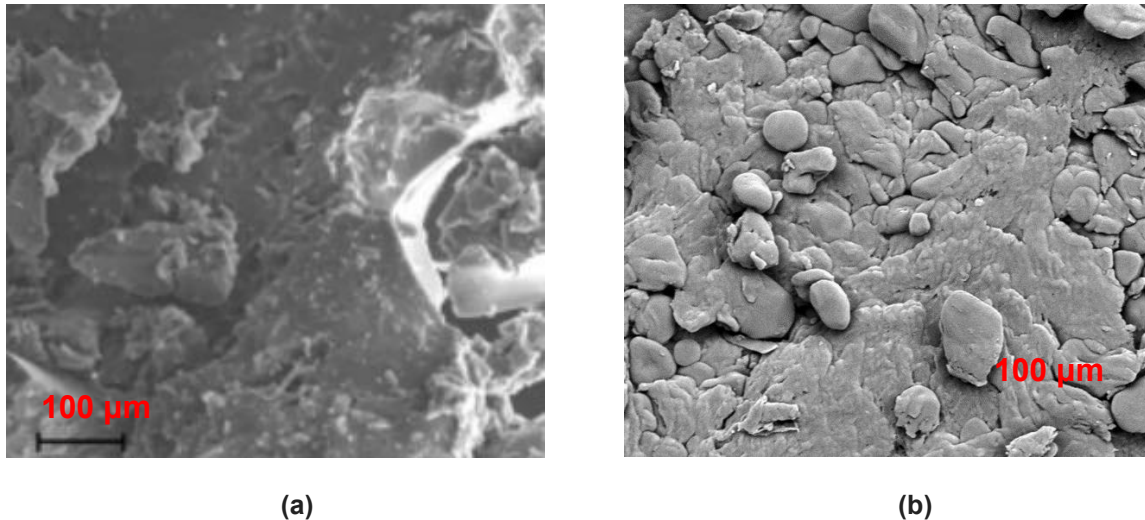
**Figura 26.** Termograma. En rojo TGA de Polietileno de baja densidad y en azul TGA del bioplástico.

### **Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

Las imágenes proporcionadas muestran micrografías electrónicas de barrido (SEM) de dos materiales:

(a) Polietileno de baja densidad (PEBD): Se observa una estructura similar a una red, con fibras entrelazadas de tamaño irregular. La presencia de poros o vacíos es evidente, lo que puede afectar las propiedades mecánicas del material.

(b) Película plástica optimizada: A diferencia del PEBD, la película optimizada presenta una estructura más compacta y uniforme, con fibras más finas y menos poros. Esto sugiere que el proceso de optimización ha mejorado la cristalinidad y la densidad del material, lo que podría traducirse en una mayor resistencia mecánica y rigidez. Ver Figura 27.



**Figura 27.** SEM a 100 µm. (a) polietileno de baja densidad, (b) película plástica optimizada.

El bioplástico optimizado presenta una estructura más favorable para las propiedades mecánicas que el PEBD. La menor cantidad de poros y la mayor cristalinidad sugieren que el bioplástico podría ser un buen sustituto del PEBD en aplicaciones que requieren resistencia y rigidez.

#### **4.3. Cuantificación del desempeño ambiental de la nanocelulosa bacteriana como reemplazo parcial de material de empaque a lo largo de su ciclo de vida.**

La evaluación del desempeño ambiental de la NCB como sustituto parcial de materiales de empaque implica analizar su impacto a lo largo de todo su ciclo de vida. Esta sección se enfoca en la comparación de diferentes escenarios de producción, incluyendo la utilización de biomasa renovable y el aprovechamiento de subproductos, con el objetivo de determinar la sostenibilidad relativa frente a los métodos tradicionales basados en combustibles fósiles.

Para proporcionar una evaluación completa, se han modelado y analizado varios escenarios que representan diferentes combinaciones de materiales y procesos. El análisis se basa en la cuantificación del potencial de calentamiento global (GWP100), una métrica clave que refleja el impacto de las emisiones de gases de efecto invernadero sobre el cambio climático. Los cálculos detallados para cada

escenario se presentan en el Apéndice F, Tablas Suplementarias.

#### **4.3.1 Potencial de calentamiento global (GWP100)**

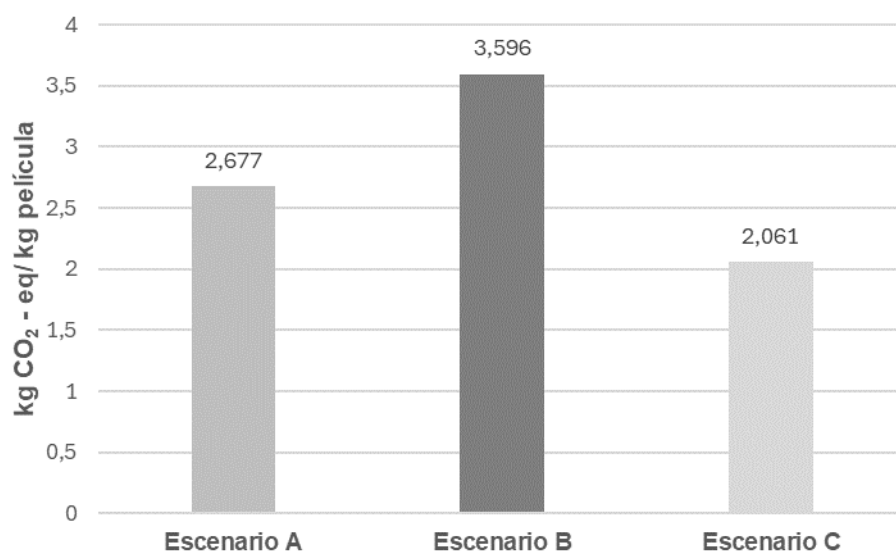
Los resultados demuestran que la producción de películas plásticas a partir de ACB y NCB ofrece una alternativa con menor huella de carbono en comparación con la producción convencional basada en combustibles fósiles (Escenario A). El Escenario C, que aprovecha el bagazo residual, presenta el menor GWP100 (2,061 kg CO<sub>2</sub>-eq), lo que indica una reducción del 23% y 42% en comparación con los Escenarios A y B, respectivamente. Ver Figura 28.

El desglose de contribuciones al GWP100 en el Escenario C muestra que los principales factores son: la producción de glicerina (49%), que se ve influenciada en parte por el uso de epichlorohydrin; la producción de polietileno (25.92%); la extrusión del plástico (10.35%); el almidón de cáscara de banano (8.81%); y la purificación de NCB (4.44%).

En contraste, el Escenario B presenta una distribución de impacto diferente: la purificación de NCB contribuye con el 45.24% del impacto total, con un 31.54% atribuible al tratamiento de residuos sólidos en la obtención de JHB. La producción de glicerina representa el 28.08%, la producción de polietileno el 14.85%, la extrusión del plástico el 5.93%, y el almidón de cáscara de banano el 5.05%. En este escenario, la mayor carga ambiental proviene de la purificación de NCB, que se debe en parte a la falta de aprovechamiento del bagazo residual, además de la producción de glicerina. Para el Escenario A, el 92.03% del impacto se debe al mercado del polietileno, mientras que el 7.97% se atribuye a la extrusión del plástico.

La reducción en la huella de carbono observada en el Escenario C se debe a varios factores clave: (i) Uso de biomasa: La sustitución de materias primas fósiles por biomasa renovable disminuye las emisiones de gases de efecto invernadero asociadas con la extracción y procesamiento de materiales (Chimphango et al., 2020; Guerrero et al., 2016; Mujtaba et al., 2023), (ii) Incorporación de nanocelulosa bacteriana: La nanocelulosa bacteriana, obtenida a partir de procesos biotecnológicos, posee propiedades mecánicas y de barrera que permiten reducir la cantidad de PEBD requerida en la producción de la película (Du et al., 2018; Hamed et al., 2022; Naeem et al., 2022), y (iii) Aprovechamiento del bagazo residual: La valorización del bagazo como fuente de energía o materia prima adicional evita su disposición final en vertederos, lo que reduce las emisiones de metano, un potente gas de efecto invernadero (Fiallos-Cárdenas et al., 2022a; Munagala et al., 2021).





**Figura 28.** Potencial de Calentamiento Global para la producción de 1 kg de película plástica en diferentes escenarios. Escenario A: Película de polietileno de baja densidad (PEBD) 100% fósil. Escenarios B y C: Película optimizada con nanocelulosa bacteriana, almidón de cáscara de banana y PEBD (ver Tab. 16). En el Escenario B, la biorrefinería desecha el bagazo residual; en el Escenario C, el bagazo residual es aprovechado.

Otros estudios, también han determinado que los bioplásticos tienen un menor HC en comparación con los plásticos de origen fósil. Según Samer et al., (2022) los resultados también muestran que las emisiones de gases de efecto invernadero en kg de CO<sub>2</sub> eq. por 1 kg de bioplásticos a través de los diferentes experimentos donde mezclan distintas composiciones de almidón de papa (6,67% - 26,67%), glicerina (3,33% - 6,67%), vinagre (3,3%) oscilan entre 0,354 y 0,623 kg de CO<sub>2</sub> eq. por kg de bioplásticos en comparación con 2,37 kg de CO<sub>2</sub> eq. por kg de polipropileno.

Bordón et al., (2022) realizaron un ACV para evaluar diversos escenarios de procesamiento utilizando fibra obtenida del pseudotallo del banana. Encontraron que las fibras sin tratamiento químico, peinadas mecánicamente, mejoran las propiedades mecánicas de los compuestos de polietileno de alta densidad (PEAD) y reducen significativamente los impactos ambientales. Los compuestos con más del 20% de fibra no tratada disminuyen el impacto ambiental en comparación con el PEAD puro.

Los hallazgos de este estudio respaldan el potencial de la biomasa y la nanotecnología para la producción de películas plásticas con menor huella de carbono. El Escenario C, que combina el uso eficiente de la biomasa, la incorporación de nanocelulosa bacteriana y el aprovechamiento del bagazo residual, emerge como la alternativa más prometedora para reducir significativamente el impacto ambiental asociado a la producción de este tipo de materiales.

#### 4.4. Análisis del uso de nanocelulosa bacteriana como soporte para la implementación de la economía circular en la cadena de valor del banano.

La NCB se produce durante la fermentación de una mezcla de infusión de té verde y JHB como sustrato. En este estudio, se optó por utilizar JHB, un subproducto desechado en el suelo de la finca, rico en azúcares, compuestos polifenólicos y nitrogenados necesarios para el crecimiento de la NCB. Los experimentos de optimización a escala de laboratorio se llevaron a cabo con un volumen de trabajo de 10 litros.

Los datos para el proceso de producción de bioplásticos se basaron en resultados experimentales a escala de laboratorio, los cuales se detallan en la Tabla 16.

**Tabla 16.** Datos experimentales obtenidos en este estudio para calcular la producción de bioplástico (biorrefinería).

Parámetros	Valores
Peso promedio de hoja de banano (kg)	1,83
Peso de Jugo de hoja de banano (JHB) por kg de hoja de banano (kg)	0,29
Peso de bagazo de hoja de banano por kg de hoja de banano (kg)	0,71
Tiempo de fermentación del medio de cultivo (días)	14,00
Tiempo de operación de la planta (días)	330,00
Numero de lotes por año	23,00
Rendimiento nanocelulosa bacteriana (NCB) en base húmeda (g/L)	800,00
Rendimiento NCB en base seca (g/L)	8,23
Concentración de JHB en el medio (%p/p)	40,00
Concentración de <i>Camellia sinensis</i> (%p/p)	20,00
Concentración de inóculo (%p/p)	1,00
Concentración de NCB para bioplástico (%p/p)	27,00
Concentración de Almidón de cáscara de banano (ACB) para bioplástico (%p/p)	21,50
Concentración de polietileno de baja densidad (PEBD) para bioplástico (%p/p)	21,50
Concentración de glicerina para bioplástico (%p/p)	27,50
Concentración de ácido acético para bioplástico (%p/p)	1,00
Concentración de ácido esteárico para bioplástico (%p/p)	1,00
Concentración de agua para bioplástico (%p/p)	0,50

La Tabla 17 proporciona una visión detallada de los costos asociados, que incluyen materias primas como hojas de banano, *Camellia sinensis*, hidróxido de sodio, entre otros, además de servicios esenciales en el proceso de producción como electricidad, agua potable y mano de obra especializada. Se asigna un valor referencial a las hojas y cáscaras de banano, a pesar de ser consideradas residuos agroindustriales.

**Tabla 17.** Costos de materias primas y servicios asociados para la producción de bioplásticos a base de Nanocelulosa Bacteriana\*

Materia prima/ Servicio	Precio
<i>Materia prima</i>	
Hojas de banano (US\$/kg) - referencial	0,07
<i>Camellia sinensis</i> (US\$/kg)	0,60
Cáscara de banano (US\$/kg) - referencial	0,01

Hidróxido de sodio (US\$/kg)	0,38
Botellas de vidrio (US\$/Unidad)	0,17
Fundas de polipropileno (US\$/Unidad)	0,10
Polietileno de baja densidad (US\$/kg)	1,20
Glicerina (US\$/kg)	0,80
Ácido acético (US\$/kg)	1,50
Ácido esteárico (US\$/kg)	2,50
<i>Servicios</i>	
Electricidad – sector comercial (US\$/kWh)	0,092
Agua potable – sector comercial (US\$/m <sup>3</sup> )	0,72
Agua ablandada – proceso de filtrado y ablandamiento (US\$/m <sup>3</sup> )	1,24
<i>Mano de obra</i>	
Operador de proceso (US\$/h)	3,00
Supervisión de producción (US\$/h)	5,00
Técnico de mantenimiento (US\$/h)	5,00

\* Cálculos basados en datos experimentales destallados en la Tab. 17

La Tabla 18 proporciona un desglose detallado del equipo necesario para el proceso de producción, incluyendo especificaciones técnicas y costos individuales. El costo del fermentador representa el 2,38% del costo total de equipos, mientras que el secador de bandeja constituye el 16,67%. El mezclador utilizado para la producción del medio de cultivo representa el 9,52%, y la extrusora corresponde al 14,29% del costo total de equipos. Behera et al., (2022) destacaron que la unidad de fermentación estática de acero inoxidable representa el 54,7% de los costos totales de capital. En contraste, este estudio propone el uso de fermentadores de plástico, lo cual reduce significativamente el costo del equipo.

**Tabla 18.** Descripción del equipo y precios unitarios que contribuyen al costo de capital.

Equipo	Descripción	Material	Unidades	Costo unitario (\$)
Mezclador	Volumen del recipiente 1500 l	Acero inoxidable	1	50000
Fermentadores	Bandejas plásticas con un volumen de 1000 l	Plástico resistente a altas temperaturas	1	10000
Trapiche	Trituradora de 10 HP. Con filtro incluido y bandeja de recolección. 1 ton de materia prima por hora. Producir pellets de diferentes tamaños, entre 6 mm y 12 mm de diámetro.	Acero inoxidable	1	1000
Peletizadora	Potencia 20 HP. Producción 1 ton biomasa lignocelulósica/hora.	Acero inoxidable	1	1000
Secador	Área de bandeja secadora 5 m <sup>2</sup> , Flujo de aire: 1000 CFM,	Acero inoxidable	1	70000

	Potencia: 75 kW, Capacidad: 200 kg/h, Temperatura de secado: 40°C a 100°C. Diámetro de tornillo de la extrusora. 60 mm,			
Extrusora	Capacidad: 50 kg/h, Relación L/D: 20:1, Potencia: 75 HP.	Acero inoxidable	1	60000
Molino de martillos	Capacidad: 1 t/h Potencia: 50 HP	Acero inoxidable	1	50000
Sedimentador	Volumen: 200 l	Acero inoxidable	1	20000
Filtro	Capacidad: 5 m <sup>3</sup> /h	Acero inoxidable	1	50000
Otros equipos no listados*				100000
<b>TOTAL</b>				<b>420000</b>

(\*) Sistema de control y monitoreo, sistema de limpieza en sitio (CIP), sistema de transferencia de masa.

El total de los gastos directos de capital fijo comprende el total de los costes directos de capital de la planta; y los costos indirectos de capital relacionados con la construcción e ingeniería de la planta y los honorarios del contratista y de contingencia. Los costos directos de capital fijo del proceso están asociados mayoritariamente a los precios de los equipos, aparte de los costes indirectos vinculados a la instalación, tuberías y otras actividades auxiliares. Dourado et al., (2018) informaron que el costo total de capital directo para el proyecto de fermentación de NCB fue de 1,3 millones de dólares estadounidenses, con el 70% de los costos vinculados a la instalación, tuberías de proceso, instrumentación, aislamiento, construcción eléctrica, mejoras en el patio y otras instalaciones auxiliares. Similarmente, Ul-Islam et al., (2020) reportaron que el 71% de los gastos de capital para la producción de NCB estaban asociados con los costos directos totales de la planta. En contraste, Behera et al., (2022) estimaron un costo de capital fijo directo de 12 millones de dólares estadounidenses, con el 54,35% del costo directo total de la planta. Este estudio determinó que el costo directo total de la planta representa el 67,41%. Ver Tabla 19.

**Tabla 19.** Gastos de capital del proceso de producción de biorrefinería.

<b>Resumen de la estimación de capital fijo (Precio 2022 en \$)</b>	
<b>A. Costo Directo Total de la Planta (TPDC)</b>	
1. Costo de compra del equipo	420000
2. Instalación	210000
3. Tuberías de proceso	168000
4. Instrumentación	168000
5. Aislamiento	12600
6. Eléctrico	42000

7. Edificios	210000
8. Mejora del jardín	63000
9. Instalaciones auxiliares	168000
10. Instalación de planta de tratamiento de agua	100000
<b>Total - TPDC</b>	<b>1561600</b>
<b>B. Costo Indirecto Total de la Planta (TPIC)</b>	
11. Ingeniería	175392
12. Construcción	248472
<b>Total - TPIC</b>	<b>452864</b>
<b>C. Costo total de planta (TPC = TPDC + TPIC)</b>	
<b>Total - TPC</b>	<b>2014464</b>
<b>D. Honorarios y contingencia del contratista (CFC)</b>	
13. Honorarios del contratista	94273
14. Contingencia	188546
<b>Total - CFC</b>	<b>302169</b>
<b>E. Costo de capital fijo directo (DFC = TPC + CFC)</b>	
<b>Total - DFC</b>	<b>2316633</b>

\*El multiplicador y el factor de costo para cada uno de los parámetros de costo han sido referidos de Peters & Timmerhaus, (2018).

Se realizó un análisis de rentabilidad del proyecto con el objetivo de evaluar la viabilidad del bioproceso simulado durante su implementación en tiempo real. El análisis económico del proceso de producción de bioplástico a base de NCB, PEBD y ACB revela una estructura financiera robusta y prometedora. Ver Tabla 20. La evaluación consideró los filamentos formados tras la extrusión del bioplástico como la principal fuente de ingresos, complementada por el té fermentado (análogo al caldo de Kombucha) y la fibra vegetal peletizada como fuentes secundarias de ingresos.

La capacidad total de producción del proceso es de 79,090.13 kg de NCB, 394,428.59 kg de bebida análoga al té de Kombucha y 1,839,953.03 kg de biomasa lignocelulósica por año. La producción de bioplástico es de 292,926.41 kg/año. El análisis de costos unitarios de producción muestra una eficiencia en la manufactura, con costos netos por kilogramo de 1.04 dólares para la biopelícula NCB, 2.10 dólares para el análogo de té de Kombucha, 1.10 dólares para la fibra vegetal y 0.80 dólares para el ACB.

Los indicadores financieros muestran un margen bruto del 58.25% y un retorno de la inversión del 12.50%, lo que demuestra la capacidad del proyecto para generar beneficios significativos en relación con el capital invertido. Además, la tasa interna de retorno después de impuestos alcanza el 16.93%. El análisis económico también evalúa la estructura de financiamiento y los riesgos asociados. Con un tiempo de amortización de 4.75 años y un tiempo de recuperación de la inversión ajustado a la tasa de oportunidad de 4.49 años (1), se destaca la capacidad del proyecto para generar flujo de efectivo positivo y recuperar la inversión inicial en un período razonable.

Ul-Islam et al., (2020) reportaron una ganancia de 3.3 millones de dólares estadounidenses, con un período de recuperación de 4 años para recuperar el monto invertido durante la tenencia del proyecto.

Behera et al., (2022) estimaron una tasa interna de retorno después de impuestos de 16.48%, con un valor presente neto de 9 millones de dólares estadounidenses a una tasa de interés del 7%. El análisis de flujo de caja proyectó un flujo de caja y beneficios positivos con un período de recuperación de la inversión de 4.23 años (datos no mostrados), tras el cual la empresa podría recuperar el importe gastado.

**Tabla 20.** Análisis de rentabilidad del proceso de producción de bioplástico a base de NCB.

Nº	Categorías	Importe
1.	Capital fijo directo (A)	2.316.633 \$
2.	Capital de trabajo (B)	200000 \$
3.	Costo de puesta en marcha (C)	500000 \$
4.	Inversión total (A + B + C)	3016633 \$
5.	Gastos anuales de funcionamiento (D)	100000,00 \$
6.	Ingresos anuales de la biopelícula NCB (E)	12891.89 \$
7.	Ingresos anuales de la bebida Kombucha (F)	343152.87 \$
8.	Ingresos anuales del pellet de fibra (G)	735981.21 \$
9.	Ingresos totales obtenidos por año (H = E + F+G)	1092025.97 \$
10.	Costo neto unitario de producción de NCB (por kg)	1.04 \$
11.	Costo neto unitario de producción de análogo de té de kombucha (por kg)	2.10 \$
12.	Costo neto unitario de producción de fibra vegetal (por kg)	1.10 \$
13.	Costo neto unitario de producción de almidón de cáscara de banano (por kg)	0.80 \$
14.	Ingresos netos unitarios de producción (por kg)	115.00 \$
15.	Utilidad bruta por año (I = G – D)	635981.21 \$
16.	Impuestos (en 25%) por año (J) - Ecuador	158995.30 \$
17.	Beneficio neto (I – J + Depreciación)	376985.91 \$
18.	Margen bruto	58.25 %
19.	Retorno de la inversión	12.50 %
20.	Tiempo de amortización	4.75 años
21.	Tasa Interna de Devoluciones (TIR) después de impuestos	16.93 %
22.	Valor Presente Neto	137349.82 \$
23.	Tasa de Reinversión (RI) o tasa de oportunidad	14 %
24.	Tasa interna de retorno modificada	16 %
25.	Tiempo de recuperación de lo invertido sin tasa de oportunidad	3,69 años
26.	Tiempo de recuperación de lo invertido teniendo en cuenta la tasa de retorno de oportunidad	4,49 años

La producción de NCB depende en gran medida de las condiciones del proceso, lo que influye directamente en los costos unitarios de producción y en la viabilidad económica del proyecto. Se encontró que la economía del proceso está estrechamente ligada a la instalación y las operaciones de las unidades involucradas. Behera et al., (2022) informaron que los costos de insumos en la fermentación de kombucha pueden reducirse mediante el aumento del volumen de producción. Lo cual permitirá reducir el costo de producción de bioplástico. En la tabla 21, se muestra el análisis de flujo de caja.

**Tabla 21.** Análisis de flujo de caja (en millones de US\$) para el proceso de producción de bioplástico a base de NCB.

<b>Años</b>	<b>Ingresos (\$)</b>	<b>Egresos (\$)</b>	<b>Flujos de efectivo neto (\$)</b>	<b>Valor presente</b>	<b>Acumulado sin tasa de oportunidad</b>	<b>Flujos netos A Valor Presente</b>	<b>Valor Acumulado con tasa de oportunidad</b>
0	1,092	3,016	-1,924	-1,925	-1,925	-1,925	-1,925
1	1,092	0,491	0,601	0,527	-1,324	0,527	-1,398
2	1,092	0,491	0,601	462.153,19	-0,833	0,462	-0,936
3	1,092	0,491	0,601	405.397,53	-0,342	0,405	-0,530
4	1,092	0,491	0,601	355.611,87	0,150	0,356	-0,174
5	1,092	0,491	0,601	311.940,24	0,642	0,312	0,137

La implementación de una biorrefinería multiproducto a menudo se utiliza para aprovechar las ventajas económicas del proceso biotecnológico, vendiendo varios productos generados en diferentes procesos unitarios a lo largo de toda la cadena de producción ((Dourado et al., 2018). Este enfoque permite optimizar el costo de producción del bioplástico a 0.97 \$/kg, con un precio de venta en el mercado de 1.20 \$/kg, lo que resulta en una utilidad del 24%. Este valor es comparable al costo de producción del polietileno de baja densidad.

## **CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **5.1. Determinación del medio de cultivo óptimo de la *K. xylinus* utilizando como fuente de carbono los residuos lignocelulósicos del banano, raquis y hoja, para la obtención de la nanocelulosa bacteriana**

Este estudio marca un avance notable en la producción de nanocelulosa bacteriana (NCB) mediante la utilización de recursos sostenibles, específicamente el jugo de hojas y raquis de banano (JHB y JRB). La optimización del proceso, realizada a través de un diseño experimental Box-Benken, ha generado un modelo estadístico altamente significativo, revelando que el JRB ozonizado no es adecuado para la optimización de la producción de NCB, mientras que el JHB se ha demostrado como una fuente viable y eficiente de nutrientes en el proceso de fermentación. Los análisis de FTIR, SEM, TGA y XRD han confirmado la alta calidad del NCB producido, al mostrar resultados comparables con las curvas de control, subrayando la robustez y fiabilidad del proceso desarrollado. La producción a escala de laboratorio y en biorreactores no solo evidencia la escalabilidad del proceso, sino que también sugiere un considerable potencial para su implementación en entornos industriales. Desde una perspectiva teórica, el estudio ha establecido un modelo sólido que destaca la influencia crítica de los componentes del medio de cultivo, contribuyendo significativamente al cuerpo de conocimientos en el campo de los biomateriales sostenibles. El enfoque innovador en la utilización de JHB refleja los últimos avances en la investigación de biomateriales y subraya la importancia de integrar recursos renovables para optimizar procesos de producción.

Las implicaciones del estudio son significativas tanto desde el punto de vista ambiental como económico. La investigación demuestra que el uso de residuos lignocelulósicos del banano para la producción de NCB ofrece una solución sostenible al aprovechar residuos agrícolas. Este enfoque tiene el potencial de servir de modelo para otras industrias en busca de alternativas sostenibles para la producción de biomateriales, consolidando su relevancia en la búsqueda de soluciones ecológicas. Para futuras investigaciones, se recomienda ampliar el estudio para incluir una gama más amplia de residuos agrícolas en la producción de NCB, proporcionando una visión más completa sobre la viabilidad y eficiencia de diferentes fuentes de carbono y nutrientes. También se sugiere investigar más a fondo las condiciones óptimas para la ozonización y otras técnicas de tratamiento del JRB, lo que podría abrir nuevas posibilidades para mejorar su eficacia en la producción de NCB. Finalmente, realizar estudios adicionales para evaluar la escalabilidad del proceso en entornos industriales más grandes permitirá valorar la viabilidad comercial del proceso en una escala mayor. En conjunto, este estudio no solo avanza



en la optimización de la producción de NCB, sino que también establece un nuevo paradigma en la utilización de recursos agrícolas para la producción de biomateriales, ofreciendo perspectivas prometedoras para el desarrollo de empaques sostenibles y la integración de prácticas industriales más ecológicas.

## **5.2. Empleo de la nanocelulosa bacterial como reemplazo parcial de material de empaque**

La investigación ha revelado que las moléculas de almidón de cáscara de banano (ACB) son notablemente ricas en amilopectina amorfa, posicionándolas como una matriz prometedora para el desarrollo de películas termoplásticas basadas en almidón. Mediante la optimización de las películas biológicas elaboradas a partir de ACB, NCB y polietileno de baja densidad (PEBD) usando un diseño experimental Simplex Centroid, se obtuvo un modelo estadístico altamente significativo. Este modelo ha demostrado la eficacia de las composiciones cercanas al punto central del diseño, subrayando la viabilidad industrial de utilizar subproductos agrícolas para la sustitución parcial del PEBD. La resistencia a la tracción de la película compuesta de NCB+PEBD+ACB se ha igualado a la de la película de PEBD, lo que indica su potencial para aplicaciones industriales reales.

Las NCB producidas mediante el diseño Box-Benken han demostrado capacidades de refuerzo superiores, mejorando notablemente las propiedades mecánicas de las películas basadas en PEBD y ACB. Los análisis de FTIR corroboran que la película NCB+PEBD+ACB es comparable a la película de control en términos de grupos funcionales, confirmando su calidad y compatibilidad.

Este estudio no solo avanza en el desarrollo de materiales biológicos sostenibles, sino que también representa un paso significativo hacia una bioeconomía circular en las industrias de procesamiento de banano. La integración de subproductos agrícolas como el ACB en la producción de películas termoplásticas demuestra un enfoque innovador que puede reducir la dependencia de recursos sintéticos y mejorar la sostenibilidad ambiental. Para maximizar el impacto de estos resultados, se recomienda explorar la aplicación de estos materiales en entornos industriales reales y realizar estudios adicionales sobre el uso de diversos subproductos agrícolas para diversificar las fuentes de carbono y nutrientes. Investigaciones futuras deberían enfocarse en la optimización de procesos de producción a gran escala y en la evaluación del comportamiento de estos materiales en condiciones ambientales y de uso prolongado, lo que facilitará la transición hacia soluciones más sostenibles en la industria del embalaje y otros sectores..

### **5.3. Cuantificación del desempeño ambiental de la nanocelulosa bacterial como reemplazo parcial de material de empaque a lo largo de su ciclo de vida**

La investigación ha demostrado que la producción de bioplásticos a base de NCB y ACB presenta una huella de carbono inferior en comparación con el PEBD puro. En particular, el bioplástico elaborado exhibe un potencial de calentamiento global (GWP100) de 2,06 kg CO<sub>2</sub>-eq por kg, en contraste con los 2,67 kg CO<sub>2</sub>-eq por kg de película plástica de PEBD. Este diferencial resalta la relevancia de optimizar los procesos de producción y adoptar fuentes renovables de energía para reducir el impacto ambiental y promover prácticas más sostenibles.

Los resultados evidencian una variabilidad considerable en las emisiones asociadas con la producción de NCB, especialmente dentro del contexto de una biorrefinería multiproducto. Esta variabilidad está influenciada por las condiciones del proceso y las materias primas empleadas. La optimización de estos factores se presenta como una estrategia esencial para posicionar la producción de NCB a partir de hojas de banano como una opción en comparación con el uso de PEBD tradicional.

La investigación subraya la necesidad de continuar perfeccionando las técnicas de producción y explorar la integración de tecnologías más limpias y eficientes. Solo a través de una mejora continua en los procesos y un enfoque estratégico en la reducción de emisiones será posible lograr una transición efectiva hacia una bioeconomía circular, donde los materiales derivados de residuos agrícolas no solo ofrecen una alternativa viable al plástico convencional, sino que también contribuyen significativamente a la reducción de la huella de carbono global. La implementación de estas estrategias permitirá que la producción de NCB y bioplásticos derivados se consolide como una solución ambientalmente responsable y competitiva en el mercado.

### **5.4. Análisis del uso de nanocelulosa bacterial como soporte para la implementación de la economía circular en la cadena de valor del banano**

La implementación de NCB como soporte para la economía circular en la cadena de valor del banano ha demostrado ser económicamente viable. El análisis financiero revela que, con una inversión total de 3,016,633 dólares, se pueden generar ingresos anuales de 1,092,025.97 dólares, provenientes de la biopelícula de NCB, la bebida análoga al té de kombucha y el pellet de fibra. Con un margen bruto del 58.25% y un retorno de la inversión del 12.50%, el proyecto muestra un potencial significativo para generar beneficios económicos. La tasa interna de retorno (TIR) después de impuestos del 16.93% y un tiempo de amortización de 4.75 años indican una recuperación rápida de la inversión inicial.

Además, la producción de bioplástico a partir de NCB tiene un costo de 0.97 \$/kg, con un precio de venta de 1.20 \$/kg, logrando una utilidad del 24%, comparable al costo del polietileno de baja densidad (PEBD). La estrategia de utilizar una biorrefinería multiproducto maximiza las ventajas económicas del proceso biotecnológico al permitir la venta de diversos productos generados en diferentes etapas. Este enfoque no solo mejora la eficiencia económica, sino que también promueve la sostenibilidad al integrar productos derivados del banano en una cadena de valor circular.

En el contexto global de búsqueda de soluciones más ecológicas, estos resultados subrayan la relevancia de adoptar tecnologías basadas en biomateriales y modelos de economía circular. Se recomienda continuar explorando la viabilidad de otros subproductos agrícolas en la producción de NCB y evaluar el impacto de diferentes estrategias de comercialización para maximizar los beneficios económicos y ambientales del proyecto.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AbdElhafez, S. E., Taha, T., Mansy, A. E., El-Desouky, E., Abu-Saied, M. A., Eltaher, K., Hamdy, A., El Fawal, G., Gamal, A., Hashim, A. M., Elgharbawy, A. S., El-Latif, M. M. A., Hamad, H., & Ali, R. M. (2022). Experimental Optimization with the Emphasis on Techno-Economic Analysis of Production and Purification of High Value-Added Bioethanol from Sustainable Corn Stover. *Energies*, *15*(17), Article 17.  
<https://doi.org/10.3390/en15176131>
- Abdullah, N., Sulaiman, F., & Taib, R. M. (2013). *Characterization of banana (Musa spp.) plantation wastes as a potential renewable energy source*. *1528*, 325-330.  
<https://doi.org/10.1063/1.4803618>
- Abera, W. G., Kasirajan, R., & Majamo, S. L. (2023). Synthesis and characterization of bioplastic film from banana (Musa Cavendish species) peel starch blending with banana pseudo-stem cellulosic fiber. *Biomass Conversion and Biorefinery*.  
<https://doi.org/10.1007/s13399-023-04207-8>
- Abol-Fotouh, D., Hassan, M. A., Shokry, H., Roig, A., Azab, M. S., & Kashyout, A. E.-H. B. (2020). Bacterial nanocellulose from agro-industrial wastes: Low-cost and enhanced production by *Komagataeibacter saccharivorans* MD1. *Scientific Reports*, *10*(1), 3491.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-60315-9>
- Acevedo, S. A., Carrillo, Á. J. D., López, E. F., & Grande-Tovar, C. D. (2021). Recovery of banana waste-loss from production and processing: A contribution to a circular economy. *Molecules*, *26*(17). <https://doi.org/10.3390/molecules26175282>
- Acevedo-García, B., Santibañez-Aguilar, J. E., & Alvarez, A. J. (2022). Integrated multiproduct biorefinery from *Ricinus communis* in Mexico: Conceptual design, evaluation, and optimization, based on environmental and economic aspects. *Bioresource Technology Reports*, *19*, 101201. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101201>
- Aditiawati, P., Taufik, I., Alexis, J. J. G., & Dungani, R. (2023). Bacterial Nanocellulose from Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast Kombucha Prepared with Lemongrass Tea

and Sucrose: Optimization and Characterization. *BioResources*, 18(2), 3178-3197.

<https://doi.org/10.15376/biores.18.2.3178-3197>

Admasie, T. Z., Biadglegne, F., & Abda, E. M. (2024). Alkaline keratinase from *Bacillus* sp. DRS4 efficiently biodegrades chicken feathers to synthesize improved keratin/bacterial nanocellulose-based bioplastics. *Heliyon*, 10(12).

<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32768>

Agrocalidad. (2023). *BANANO – Agrocalidad*.

[https://www.agrocalidad.gob.ec/BPA/?dt\\_portfolios=banano](https://www.agrocalidad.gob.ec/BPA/?dt_portfolios=banano)

Akintunde, M. O., Adebayo-Tayo, B. C., Ishola, M. M., Zamani, A., & Horváth, I. S. (2022). Bacterial Cellulose Production from agricultural Residues by two *Komagataeibacter* sp. Strains. *Bioengineered*, 13(4), 10010-10025.

<https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2062970>

Alavudeen, A., Rajini, N., Karthikeyan, S., Thiruchitrabalam, M., & Venkateshwaren, N. (2015). Mechanical properties of banana/kenaf fiber-reinforced hybrid polyester composites: Effect of woven fabric and random orientation. *Materials & Design* (1980-2015), 66, 246-257. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2014.10.067>

Alemam, A. M., Shaheen, T. I., Hassan, S. E.-D., Desouky, S. E., & El-Gamal, M. S. (2021). Production enhancement of bacterial cellulose nanofiber using local *Komagataeibacter xylinus* SB3.1 under static conditions. *Egyptian Journal of Chemistry*, 64(4), 2213-2221.

<https://doi.org/10.21608/ejchem.2021.52972.3096>

Alemdar, A., & Sain, M. (2008). Biocomposites from wheat straw nanofibers: Morphology, thermal and mechanical properties. *Composites Science and Technology*, 68(2), 557-565. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2007.05.044>

Aliakbarian, B., Ghirlandi, S., Rizzi, A., Stefanini, R., & Vignali, G. (2024). Life cycle assessment of plastic and paper-based ultra high frequency RFID tags. *International Journal of RF Technologies*, 14(1), 17-32. <https://doi.org/10.3233/RFT-230044>

Almeida, T., Karamysheva, A., Valente, B. F. A., Silva, J. M., Braz, M., Almeida, A., Silvestre, A. J. D., Vilela, C., & Freire, C. S. R. (2023). Biobased ternary films of thermoplastic

- starch, bacterial nanocellulose and gallic acid for active food packaging. *Food Hydrocolloids*, 144, 108934. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108934>
- Alvira, P., Tomás-Pejó, E., Ballesteros, M., & Negro, M. J. (2010). Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: A review. *Bioresource Technology*, 101(13), 4851-4861. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.11.093>
- Amin, M. R., Chowdhury, M. A., & Kowser, M. A. (2019). Characterization and performance analysis of composite bioplastics synthesized using titanium dioxide nanoparticles with corn starch. *Heliyon*, 5(8). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02009>
- Amin, M. Z., Islam, T., Mostofa, F., Uddin, M. J., Rahman, M. M., & Satter, M. A. (2019). Comparative assessment of the physicochemical and biochemical properties of native and hybrid varieties of pumpkin seed and seed oil (*Cucurbita maxima* Linn.). *Heliyon*, 5(12), e02994. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02994>
- Amorim, J. D. P., Costa, A. F. S., Galdino, C. J. S., Vinhas, G. M., Santos, E. M. S., & Sarubbo, L. A. (2019). Bacterial cellulose production using fruit residues as substrate to industrial application. En *Chemical Engineering Transactions* (Vol. 74, pp. 1165-1170). Italian Association of Chemical Engineering - AIDIC. <https://doi.org/10.3303/CET1974195>
- Anastopoulos, I., Omirou, M., Stephanou, C., Oulas, A., Vasiliades, M. A., Efstathiou, A. M., & Ioannides, I. M. (2019). Valorization of agricultural wastes could improve soil fertility and mitigate soil direct N<sub>2</sub>O emissions. *Journal of Environmental Management*, 250. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109389>
- Andriani, D., Apriyana, A. Y., & Karina, M. (2020). The optimization of bacterial cellulose production and its applications: A review. *Cellulose*, 27(12), 6747-6766. <https://doi.org/10.1007/s10570-020-03273-9>
- Angouria-Tsorochidou, E., Teigiserova, D. A., & Thomsen, M. (2021). Limits to circular bioeconomy in the transition towards decentralized biowaste management systems. *Resources, Conservation and Recycling*, 164. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2020.105207>

- Anguluri, K., La China, S., Brugnoli, M., Cassanelli, S., & Gullo, M. (2022). Better under stress: Improving bacterial cellulose production by *Komagataeibacter xylinus* K2G30 (UMCC 2756) using adaptive laboratory evolution. En *Frontiers in Microbiology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.994097>
- Anjana, Raturi, G., Shree, S., Sharma, A., Panesar, P. S., & Goswami, S. (2021). Recent approaches for enhanced production of microbial polyhydroxybutyrate: Preparation of biocomposites and applications. En *International Journal of Biological Macromolecules* (Vol. 182, pp. 1650-1669). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.037>
- Annadurai, G., & Sheeja, R. Y. (1998). Use of Box-Behnken design of experiments for the adsorption of verofix red using biopolymer. *Bioprocess Engineering*, 18(6), 463-466. <https://doi.org/10.1007/s004490050472>
- Anttonen, M., Lammi, M., Mykkänen, J., & Repo, P. (2018). Circular Economy in the Triple Helix of Innovation Systems. *Sustainability*, 10(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/su10082646>
- Anusuya, R. S., Anandham, R., Kumutha, K., Gayathry, G., Mageshwaran, V., & Uthandi, S. (2020). Characterization and optimization of bacterial cellulose produced by *Acetobacter* spp. En *Journal of Environmental Biology* (Vol. 41, Número 2, pp. 207-215). Triveni Enterprises. <https://doi.org/10.22438/jeb/41/2/MRN-994>
- Aragão, J. V. S., Costa, A. F. S., Silva, G. L., Silva, S. M., Macêdo, J. S., Galdino, C. J. S., Milanez, V. F. A., & Sarubbo, L. A. (2020). Analysis of the environmental life cycle of bacterial cellulose production. En *Chemical Engineering Transactions* (Vol. 79, pp. 445-450). Italian Association of Chemical Engineering - AIDIC. <https://doi.org/10.3303/CET2079075>
- Araujo, F. S. M., Fantucci, H., de Oliveira Lima, S. H., de Abreu, M. C. S., & Santos, R. M. (2022). Modeling Canadian farmer's intention to adopt eco-friendly agricultural inputs and practices. *Regional Environmental Change*, 22(2), 44. <https://doi.org/10.1007/s10113-022-01901-7>
- Arfelis, S., Aguado, R. J., Civancik, D., Fullana-i-Palmer, P., Pèlach, M. À., Tarrés, Q., &

- Delgado-Aguilar, M. (2023). Sustainability of cellulose micro-/nanofibers: A comparative life cycle assessment of pathway technologies. *Science of The Total Environment*, 874, 162482. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162482>
- Arvidsson, R., Nguyen, D., & Svanström, M. (2015). Life Cycle Assessment of Cellulose Nanofibrils Production by Mechanical Treatment and Two Different Pretreatment Processes. *Environmental Science & Technology*, 49(11), 6881-6890. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00888>
- Aswini, K., Gopal, N. O., & Uthandi, S. (2020). Optimized culture conditions for bacterial cellulose production by *Acetobacter senegalensis* MA1. *BMC Biotechnology*, 20(1), 46. <https://doi.org/10.1186/s12896-020-00639-6>
- Atinkut, H. B., Yan, T., Zhang, F., Qin, S., Gai, H., & Liu, Q. (2020). Cognition of agriculture waste and payments for a circular agriculture model in Central China. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67358-y>
- Avcioğlu, N. H. (2022). Bacterial cellulose: Recent progress in production and industrial applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38(5), 86. <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03271-y>
- Aytekin, A. Ö., Demirbağ, D. D., & Bayrakdar, T. (2016). The statistical optimization of bacterial cellulose production via semi-continuous operation mode. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 37, 243-250. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2016.03.030>
- Bae, S., & Shoda, M. (2005). Statistical optimization of culture conditions for bacterial cellulose production using Box-Behnken design. *Biotechnology and Bioengineering*, 90(1), 20-28. <https://doi.org/10.1002/bit.20325>
- Bagewadi, Z. K., Bhavikatti, J. S., Muddapur, U. M., Yaraguppi, D. A., & Mulla, S. I. (2020). Statistical optimization and characterization of bacterial cellulose produced by isolated thermophilic *Bacillus licheniformis* strain ZBT2. *Carbohydrate Research*, 491, 107979. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2020.107979>
- Bai, F., Chen, G., Niu, H., Zhu, H., Huang, Y., Zhao, M., Hou, R., Peng, C., Li, H., Wan, X., & Cai, H. (2023). The types of brewing water affect tea infusion flavor by changing the tea



mineral dissolution. *Food Chemistry: X*, 18, 100681.

<https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100681>

Balda, S., Sharma, A., Capalash, N., & Sharma, P. (2021). Banana fibre: A natural and sustainable bioresource for eco-friendly applications. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 23(5), 1389-1401. <https://doi.org/10.1007/s10098-021-02041-y>

Ball, I., Janssen, R., & Rutz, D. (2018). *Green residues—A promising feedstock for green biorefineries? New findings from the german smibio case study. 2018(26thEUBCE)*, 1094-1098.

Bangar, S. P., Whiteside, W. S., Dunno, K. D., Cavender, G. A., & Dawson, P. (2022). Pearl millet starch-based nanocomposite films reinforced with Kudzu cellulose nanocrystals and essential oil: Effect on functionality and biodegradability. *Food Research International*, 157, 111384. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111384>

Barros, M. V., Salvador, R., de Francisco, A. C., & Piekarski, C. M. (2020). Mapping of research lines on circular economy practices in agriculture: From waste to energy. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 131. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109958>

Bartek, L., Strid, I., Henryson, K., Junne, S., Rasi, S., & Eriksson, M. (2021). Life cycle assessment of fish oil substitute produced by microalgae using food waste. *Sustainable Production and Consumption*, 27, 2002-2021. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2021.04.033>

Batista, G., Silva, A. C. B., Farinas, C. S., & da Cruz, A. J. G. (2023). Life Cycle Assessment of Cellulose Nanocrystals Production in Sugarcane Biorefineries. En A. C. Kokossis, M. C. Georgiadis, & E. Pistikopoulos (Eds.), *Computer Aided Chemical Engineering* (Vol. 52, pp. 2273-2278). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15274-0.50362-0>

Battimelli, A., Loisel, D., Garcia-Bernet, D., Carrere, H., & Delgenes, J.-P. (2010). Combined ozone pretreatment and biological processes for removal of colored and biorefractory compounds in wastewater from molasses fermentation industries. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 85(7), 968-975. <https://doi.org/10.1002/jctb.2388>

Bebber, D. P. (2019). Climate change effects on Black Sigatoka disease of banana.

- Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 374(1775), 20180269. <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0269>
- Bedard-Vallee, A., James, C., & Roberge, G. (2023). *Elsevier 2023 Sustainable Development Goals (SDGs) Mapping. 1*. <https://doi.org/10.17632/y2zyy9vwzy.1>
- Behera, B., Laavanya, D., & Balasubramanian, P. (2022). Techno-economic feasibility assessment of bacterial cellulose biofilm production during the Kombucha fermentation process. *Bioresource Technology*, 346, 126659. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126659>
- Bhattacharya, S., Gachhui, R., & Sil, P. C. (2013). Effect of Kombucha, a fermented black tea in attenuating oxidative stress mediated tissue damage in alloxan induced diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 328-340. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.051>
- 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>
- Bishop, G., Styles, D., & Lens, P. N. L. (2021). Environmental performance comparison of bioplastics and petrochemical plastics: A review of life cycle assessment (LCA) methodological decisions. *Resources, Conservation and Recycling*, 168, 105451. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2021.105451>
- Bordón, P., Elduque, D., Paz, R., Javierre, C., Kusić, D., & Monzón, M. (2022). Analysis of processing and environmental impact of polymer compounds reinforced with banana fiber in an injection molding process. *Journal of Cleaner Production*, 379, 134476. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.134476>
- Boschiero, M., Cherubini, F., Nati, C., & Zerbe, S. (2016). Life cycle assessment of bioenergy production from orchards woody residues in Northern Italy. *Journal of Cleaner Production*, 112, 2569-2580. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.09.094>
- Box, G. E. P., & Behnken, D. W. (1960). Some New Three Level Designs for the Study of Quantitative Variables. *Technometrics*, 2(4), 455-475. <https://doi.org/10.1080/00401706.1960.10489912>

- Brando, P. M., Coe, M. T., DeFries, R., & Azevedo, A. A. (2013). Ecology, economy and management of an agroindustrial frontier landscape in the southeast Amazon. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1619), 20120152. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0152>
- Calvin, K., Cowie, A., Berndes, G., Arneeth, A., Cherubini, F., Portugal-Pereira, J., Grassi, G., House, J., Johnson, F. X., Popp, A., Rounsevell, M., Slade, R., & Smith, P. (2021). Bioenergy for climate change mitigation: Scale and sustainability. *GCB Bioenergy*, 13(9), 1346-1371. <https://doi.org/10.1111/gcbb.12863>
- Calzadilla, A., Rehdanz, K., Betts, R., Falloon, P., Wiltshire, A., & Tol, R. S. J. (2013). Climate change impacts on global agriculture. *Climatic Change*, 120(1), 357-374. <https://doi.org/10.1007/s10584-013-0822-4>
- Carus, M., & Dammer, L. (2018). The Circular Bioeconomy—Concepts, Opportunities, and Limitations. *Industrial Biotechnology*, 14(2), 83-91. <https://doi.org/10.1089/ind.2018.29121.mca>
- Carvalho, T., Guedes, G., Sousa, F. L., Freire, C. S. R., & Santos, H. A. (2019). Latest Advances on Bacterial Cellulose-Based Materials for Wound Healing, Delivery Systems, and Tissue Engineering. *Biotechnology Journal*, 14(12), 1900059. <https://doi.org/10.1002/biot.201900059>
- Cavka, A., Wallenius, A., Alriksson, B., Nilvebrant, N.-O., & Jönsson, L. J. (2015). Ozone detoxification of steam-pretreated Norway spruce. *Biotechnology for Biofuels*, 8(1), 196. <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0388-7>
- Cazón, P., & Vázquez, M. (2021). Bacterial cellulose as a biodegradable food packaging material: A review. *Food Hydrocolloids*, 113, 106530. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106530>
- Cerrutti, P., Roldán, P., García, R. M., Galvagno, M. A., Vázquez, A., & Foresti, M. L. (2016). Production of bacterial nanocellulose from wine industry residues: Importance of fermentation time on pellicle characteristics. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(14). <https://doi.org/10.1002/app.43109>

- Céspedes, C., Fernández, A., & Calvo, P. (2011). *EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE FRUTA DE BANANO DE ALTURA QUE SE PRODUCE EN EL CANTÓN DE TURRIALBA, COSTA RICA*. 11.
- Chai, S. Y., Abbasiliasi, S., Lee, C. K., Ibrahim, T. A. T., Kadkhodaei, S., Mohamed, M. S., Hashim, R., & Tan, J. S. (2018). Extraction of fresh banana waste juice as non-cellulosic and non-food renewable feedstock for direct lipase production. *Renewable Energy*, 126, 431-436. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.03.050>
- Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Bhattacharya, D., Sarkar, S., & Gachhui, R. (2019). 10 - Kombucha: A Promising Functional Beverage Prepared From Tea. En A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Non-Alcoholic Beverages* (pp. 285-327). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815270-6.00010-4>
- Chandana, A., Mallick, S. P., Dikshit, P. K., Singh, B. N., & Sahi, A. K. (2022). Recent Developments in Bacterial Nanocellulose Production and its Biomedical Applications. *Journal of Polymers and the Environment*, 30(10), 4040-4067. <https://doi.org/10.1007/s10924-022-02507-0>
- 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>
- Chaparro-Garnica, J., Guiton, M., Salinas-Torres, D., Morallón, E., Benetto, E., & Cazorla-Amorós, D. (2022). Life Cycle assessment of biorefinery technology producing activated carbon and levulinic acid. *Journal of Cleaner Production*, 380, 135098. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.135098>
- Chaussé, J., Girard, V.-D., Perron, T., Challut, T., & Vermette, P. (2024). Characterization of bacterial cellulose produced by the KomEt strain isolated from a kombucha SCOBY. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 58, 103172. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2024.103172>
- Cheng, Z., Yang, R., Liu, X., Liu, X., & Chen, H. (2017). Green synthesis of bacterial cellulose

- via acetic acid pre-hydrolysis liquor of agricultural corn stalk used as carbon source. *Bioresource Technology*, 234, 8-14. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.02.131>
- Chimphango, A. F. A., Mugwagwa, L. R., & Swart, M. (2020). *Extraction of Multiple Value-Added Compounds from Agricultural Biomass Waste: A Review* (p. 192). [https://doi.org/10.1007/978-3-030-38032-8\\_9](https://doi.org/10.1007/978-3-030-38032-8_9)
- Chojnacka, K., Moustakas, K., & Witek-Krowiak, A. (2020). Bio-based fertilizers: A practical approach towards circular economy. *Bioresource Technology*, 295, 122223. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122223>
- Ciroth, A. (2007). ICT for environment in life cycle applications openLCA — A new open source software for life cycle assessment. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 12(4), 209-210. <https://doi.org/10.1065/lca2007.06.337>
- Clay, N., & Zimmerer, K. S. (2020). Who is resilient in Africa's Green Revolution? Sustainable intensification and Climate Smart Agriculture in Rwanda. *Land Use Policy*, 97, 104558. <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2020.104558>
- Coltro, L., & Karaski, T. U. (2019). Environmental indicators of banana production in Brazil: Cavendish and Prata varieties. *Journal of Cleaner Production*, 207, 363-378. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.09.258>
- Consejo de la Unión Europea. (2022). *Últimas actuaciones estratégicas de la UE sobre cambio climático*. Consilium. <https://www.consilium.europa.eu/es/policies/climate-change/eu-climate-action/>
- Costa, M. A. D. C., Dias Moreira, L. D. P., Duarte, V. D. S., Cardoso, R. R., São José, V. P. B. D., Silva, B. P. D., Grancieri, M., Corich, V., Giacomini, A., Bressan, J., Martino, H. S. D., & Barros, F. A. R. D. (2022). Kombuchas from Green and Black Tea Modulate the Gut Microbiota and Improve the Intestinal Health of Wistar Rats Fed a High-Fat High-Fructose Diet. *Nutrients*, 14(24). <https://doi.org/10.3390/nu14245234>
- Costa, S., Rugiero, I., Uria, C. L., Pedrini, P., & Tamburini, E. (2018). Lignin degradation efficiency of chemical pre-treatments on banana rachis destined to bioethanol production. *Biomolecules*, 8(4). <https://doi.org/10.3390/biom8040141>

Cotana, F., Cavalaglio, G., Gelosia, M., Coccia, V., Petrozzi, A., Ingles, D., & Pompili, E.

(2015). A comparison between SHF and SSSF processes from cardoon for ethanol production. *Industrial Crops and Products*, 69, 424-432.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.064>

Cullen, J. M. (2017). Circular Economy: Theoretical Benchmark or Perpetual Motion Machine?

*Journal of Industrial Ecology*, 21(3), 483-486. <https://doi.org/10.1111/jiec.12599>

Czyrski, A., & Sznura, J. (2019). The application of Box-Behnken-Design in the optimization of

HPLC separation of fluoroquinolones. *Scientific Reports*, 9(1), Article 1.

<https://doi.org/10.1038/s41598-019-55761-z>

Dáger-López, D., Chenché, Ó., Ricaurte-Párraga, R., Núñez-Rodríguez, P., Bajaña, J. M., &

Fiallos-Cárdenas, M. (2024). Advances in the Production of Sustainable Bacterial Nanocellulose from Banana Leaves. *Polymers*, 16(8), Article 8.

<https://doi.org/10.3390/polym16081157>

D'Amato, D., Droste, N., Allen, B., Kettunen, M., Lähtinen, K., Korhonen, J., Leskinen, P.,

Matthies, B. D., & Toppinen, A. (2017). Green, circular, bio economy: A comparative analysis of sustainability avenues. *Journal of Cleaner Production*, 168, 716-734.

<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.09.053>

Dartora, B., Hickert, L. R., Fabricio, M. F., Ayub, M. A. Z., Furlan, J. M., Wagner, R., Perez, K.

J., & Sant'Anna, V. (2023). Understanding the effect of fermentation time on physicochemical characteristics, sensory attributes, and volatile compounds in green tea kombucha. *Food Research International*, 174, 113569.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113569>

de Araújo e Silva, R., Santa Brígida, A. I., de Freitas Rosa, M., da Silva Neto, R. M., Spinosa,

W. A., Benício de Sá Filho, E., & Brito de Figueirêdo, M. C. (2020). An approach for implementing ecodesign at early research stage: A case study of bacterial cellulose production. En *Journal of Cleaner Production* (Vol. 269). Elsevier Ltd.

<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.122245>

de Oliveira, C. T., & Oliveira, G. G. A. (2023). What Circular economy indicators really

measure? An overview of circular economy principles and sustainable development goals. *Resources, Conservation and Recycling*, 190, 106850.

<https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2022.106850>

de Oliveira Duarte, F. A., Ramos, K. K., Gini, C., Morasi, R. M., Silva, N. C. C., & Efraim, P. (2024). Microbiological characterization of kombucha and biocellulose film produced with black tea and cocoa bean shell infusion. *Food Research International*, 190, 114568. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114568>

Deepa, B., Abraham, E., Cordeiro, N., Mozetic, M., Mathew, A. P., Oksman, K., Faria, M., Thomas, S., & Pothan, L. A. (2015). Utilization of various lignocellulosic biomass for the production of nanocellulose: A comparative study. *Cellulose*, 22(2), 1075-1090. <https://doi.org/10.1007/s10570-015-0554-x>

Deng, Y., Achten, W. M. J., Van Acker, K., & Duflou, J. R. (2013). Life cycle assessment of wheat gluten powder and derived packaging film. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 7(4), 429-458. <https://doi.org/10.1002/bbb.1406>

Deng, Y., Wu, S., Zhu, T., Gou, Y., Cheng, Y., Li, X., Huang, J., & Lai, Y. (2024). Ecological packaging: Creating sustainable solutions with all-natural biodegradable cellulose materials. *Giant*, 18, 100269. <https://doi.org/10.1016/j.giant.2024.100269>

Deshmukh, A., Punjabi, G., & Joshi, S. (2021). Enhancing the Food Image Classification Accuracy Using Ensemble of CNNs and HelperNet. *2021 7th International Conference on Signal Processing and Communication (ICSC)*, 166-170. <https://doi.org/10.1109/ICSC53193.2021.9673186>

Dias, G. H., Guedes, C. L. B., Da Silva, E. T., Angilelli, K. G., Coppo, R. L., & Borsato, D. (2014). Application of the simplex-centroid design with process variable in the optimization of production conditions of B100 biodiesel from sunflower oil. *Acta Scientiarum. Technology*, 36(3), 505. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v36i3.19419>

Dima, S.-O., Panaitescu, D.-M., Orban, C., Ghiurea, M., Doncea, S.-M., Fierascu, R. C., Nistor, C. L., Alexandrescu, E., Nicolae, C.-A., Trica, B., Moraru, A., & Oancea, F. (2017).

Bacterial nanocellulose from side-streams of kombucha beverages production: Preparation and physical-chemical properties. *Polymers*, 9(8).

<https://doi.org/10.3390/polym9080374>

Dou, Y., Zhang, B., He, M., Yin, G., & Cui, Y. (2016). The structure, tensile properties and water resistance of hydrolyzed feather keratin-based bioplastics. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 24(3), 415-420. <https://doi.org/10.1016/j.cjche.2015.11.007>

Dourado, F., Fontão, A. I., Leal, M., Rodrigues, A. C., & Gama, M. (2018). Process Modelling and Techno-Economic Evaluation of an Industrial Airlift Bacterial Cellulose Fermentation Process. En *Nanocellulose and Sustainability*. CRC Press.

Du, R., Zhao, F., Peng, Q., Zhou, Z., & Han, Y. (2018). Production and characterization of bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter xylinus* isolated from Chinese persimmon vinegar. *Carbohydrate Polymers*, 194, 200-207.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.041>

Dubeau, H., & Young, S. C. (1982). Genetic effects of ozone. Induction of point mutation and genetic recombination in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 102(3), 249-259. [https://doi.org/10.1016/0165-1218\(82\)90134-3](https://doi.org/10.1016/0165-1218(82)90134-3)

Dunne, R., Desai, D., Sadiku, R., & Jayaramudu, J. (2016). A review of natural fibres, their sustainability and automotive applications. *Journal of Reinforced Plastics and Composites*, 35(13), 1041-1050. <https://doi.org/10.1177/0731684416633898>

Duque, S. H., Cardona, C. A., & Moncada, J. (2015). Techno-economic and environmental analysis of ethanol production from 10 agroindustrial residues in Colombia. *Energy and Fuels*, 29(2), 775-783. <https://doi.org/10.1021/ef5019274>

Duque-Acevedo, M., Belmonte-Ureña, L. J., Cortés-García, F. J., & Camacho-Ferre, F. (2020). Agricultural waste: Review of the evolution, approaches and perspectives on alternative uses. *Global Ecology and Conservation*, 22, e00902.

<https://doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e00902>

Dwivedi, G., & Sharma, M. P. (2015). Application of Box–Behnken design in optimization of biodiesel yield from *Pongamia* oil and its stability analysis. *Fuel*, 145, 256-262.



<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.12.063>

Ecoinvent. (2020). *Documentation of changes implemented in ecoinvent Data 3.0*. 5(3).

[https://forum.ecoinvent.org/files/report\\_of\\_changes\\_ecoinvent\\_2.2\\_to\\_3.0\\_20130904.pdf](https://forum.ecoinvent.org/files/report_of_changes_ecoinvent_2.2_to_3.0_20130904.pdf)

Egea, F. J., Torrente, R. G., & Aguilar, A. (2018). An efficient agro-industrial complex in Almería (Spain): Towards an integrated and sustainable bioeconomy model. *New Biotechnology*, 40, 103-112. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2017.06.009>

Elbehri, A. (2015). *Cambio climático y sostenibilidad del banano en el Ecuador: Evaluación de impacto y directrices de política*. FAO ;

Elbehri, A. (2015). *Climate change and food systems: Global...* - Google Académico. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).

[https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=Climate%20change%20and%20food%20systems%3A%20global%20assessments%20and%20implications%20for%20food%20security%20and%20trade&publication\\_year=2015&author=FAO](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Climate%20change%20and%20food%20systems%3A%20global%20assessments%20and%20implications%20for%20food%20security%20and%20trade&publication_year=2015&author=FAO)

El-Gendi, H., Salama, A., El-Fakharany, E. M., & Saleh, A. K. (2023). Optimization of bacterial cellulose production from prickly pear peels and its ex situ impregnation with fruit byproducts for antimicrobial and strawberry packaging applications. *Carbohydrate Polymers*, 302, 120383. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.120383>

El-Gendi, H., Taha, T. H., Ray, J. B., & Saleh, A. K. (2022). Recent advances in bacterial cellulose: A low-cost effective production media, optimization strategies and applications. *Cellulose*, 29(14), 7495-7533. <https://doi.org/10.1007/s10570-022-04697-1>

El-Naggar, N. E.-A., El-Malkey, S. E., Abu-Saied, M. A., & Mohammed, A. B. A. (2022). Exploration of a novel and efficient source for production of bacterial nanocellulose, bioprocess optimization and characterization. *Scientific Reports*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-22240-x>

El-Shall, F. N., Al-Shemy, M. T., & Dawwam, G. E. (2023). Multifunction smart nanocomposite film for food packaging based on carboxymethyl cellulose/Kombucha SCOBY/pomegranate anthocyanin pigment. *International Journal of Biological*

*Macromolecules*, 242, 125101. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125101>

Erdiansyah, M., Meryandini, A., Wijaya, M., & Suwanto, A. (2021). Microbiological quality of tempeh with different wraps: Banana leaf versus plastic. *J. Food Sci. Technol*, 1-8.

Eriksson, M., Bartek, L., Löfkvist, K., Malefors, C., & Olsson, M. E. (2021). Environmental assessment of upgrading horticultural side streams—The case of unharvested broccoli leaves. *Sustainability (Switzerland)*, 13(10). <https://doi.org/10.3390/su13105327>

European Commission. (2012). *Communication from the Commission to the European Parliament, the Council, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions: Youth Opportunities Initiative | VOCEDplus, the international tertiary education and research database*. <https://www.voced.edu.au/content/ngv:49984>

European Commission. (2014). Communication from the commission to the European parliament, the council, the European economic and social committee and the committee of the regions. *Communication from the Commission to the European Parliament, the Council, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions*.

Evans, E. A., Ballen, F. H., & Siddiq, M. (2020). Banana Production, Global Trade, Consumption Trends, Postharvest Handling, and Processing. En *Handbook of Banana Production, Postharvest Science, Processing Technology, and Nutrition* (pp. 1-18). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119528265.ch1>

Ewulonu, C. M., Chukwunke, J. L., Nwuzor, I. C., & Achebe, C. H. (2020). Fabrication of cellulose nanofiber/polypyrrole/polyvinylpyrrolidone aerogels with box-Behnken design for optimal electrical conductivity. *Carbohydrate Polymers*, 235. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116028>

Fan, X., Gao, Y., He, W., Hu, H., Tian, M., Wang, K., & Pan, S. (2016). Production of nano bacterial cellulose from beverage industrial waste of citrus peel and pomace using *Komagataeibacter xylinus*. *Carbohydrate Polymers*, 151, 1068-1072. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.062>

FAO. (2019). *FAO and partners intensify efforts to help countries combat banana disease*

*threat*. <https://www.fao.org/news/story/en/item/1235747/icode/>

FAO. (2021). *BANANA MARKET REVIEW - Preliminary results 2020*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/3/cb5150en/cb5150en.pdf>

FAOSTAT. (2022). *FAOSTAT*. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>

Farrag, A. A., Saleh, A., Soliman, N. A., Ibrahim, M. M., El-Shinnawy, N., & Abdel-Fattah, Y.

(2019). Biocellulose Production by *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 23769:

Application of Statistical Experimental Designs and Cellulose Membrane

Characterization. *Egyptian Journal of Chemistry*, 62(11), 2077-2092.

<https://doi.org/10.21608/ejchem.2019.9975.1662>

Fatima, A., Yasir, S., Ul-Islam, M., Kamal, T., Ahmad, Md. W., Abbas, Y., Manan, S., Ullah, M.

W., & Yang, G. (2022). Ex situ development and characterization of green antibacterial

bacterial cellulose-based composites for potential biomedical applications. *Advanced*

*Composites and Hybrid Materials*, 5(1), 307-321. [https://doi.org/10.1007/s42114-021-](https://doi.org/10.1007/s42114-021-00369-z)

[00369-z](https://doi.org/10.1007/s42114-021-00369-z)

Feng, X., Ge, Z., Wang, Y., Xia, X., Zhao, B., & Dong, M. (2024). Production and

characterization of bacterial cellulose from kombucha-fermented soy whey. *Food*

*Production, Processing and Nutrition*, 6(1), 20. [https://doi.org/10.1186/s43014-023-](https://doi.org/10.1186/s43014-023-00188-3)

[00188-3](https://doi.org/10.1186/s43014-023-00188-3)

Fernandes, E. R. K., Marangoni, C., Souza, O., & Sellin, N. (2013). Thermochemical

characterization of banana leaves as a potential energy source. *Energy Conversion and*

*Management*, 75, 603-608. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2013.08.008>

Fernandes, I. de A. A., Pedro, A. C., Ribeiro, V. R., Bortolini, D. G., Ozaki, M. S. C., Maciel, G.

M., & Haminiuk, C. W. I. (2020). Bacterial cellulose: From production optimization to

new applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 2598-2611.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.255>

Fernández, L. A., Bataller, M., Pérez Rey, R., Véliz, E., Hernández, C., & Alvarez, C. (2006).

Use of ozone in the decolorization of sugar industry liquors. *Ozone: Science and*

*Engineering*, 28(4), 261-267. <https://doi.org/10.1080/01919510600721506>

- Ferreira, D. C. M., Molina, G., & Pelissari, F. M. (2020). Biodegradable trays based on cassava starch blended with agroindustrial residues. *Composites Part B: Engineering*, 183, 107682. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2019.107682>
- Fiallos-Cárdenas, M., Pérez-Martínez, S., & Ramirez, A. D. (2022a). Prospectives 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., Pérez-Martínez, S., & Ramirez, A. D. (2022b). Prospectives 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., Romero Bonilla, H., Ordoñez-Viñan, M., Ruiz-Barzola, O., & Reinoso, M. A. (2021). Bacterial Nanocellulose Derived from Banana Leaf Extract: Yield and Variation Factors. *Resources*, 10(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/resources10120121>
- Fiberight. (2022). *High Value Materials*. Fiberight. <https://fiberight.com/high-value-materials/>
- Fitzgerald, A., Proud, W., Kandemir, A., Murphy, R. J., Jesson, D. A., Trask, R. S., Hamerton, I., & Longana, M. L. (2021). A life cycle engineering perspective on biocomposites as a solution for a sustainable recovery. *Sustainability (Switzerland)*, 13(3), 1-25. <https://doi.org/10.3390/su13031160>
- Florian, T. D. M., Villani, N., Aguedo, M., Jacquet, N., Thomas, H. G., Gerin, P., Magali, D., & Richel, A. (2019). Chemical composition analysis and structural features of banana rachis lignin extracted by two organosolv methods. *Industrial Crops and Products*, 132, 269-274. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.02.022>
- Forfora, N., Azuaje, I., Vivas, K. A., Vera, R. E., Brito, A., Venditti, R., Kelley, S., Tu, Q., Woodley, A., & Gonzalez, R. (2024). Evaluating biomass sustainability: Why below-ground carbon sequestration matters. *Journal of Cleaner Production*, 439, 140677. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.140677>
- Forte, A., Dourado, F., Mota, A., Neto, B., Gama, M., & Ferreira, E. C. (2021). Life cycle assessment of bacterial cellulose production. *The International Journal of Life Cycle*

- Assessment*, 26(5), 864-878. <https://doi.org/10.1007/s11367-021-01904-2>
- French, A. D. (2014). Idealized powder diffraction patterns for cellulose polymorphs. *Cellulose*, 21(2), 885-896. <https://doi.org/10.1007/s10570-013-0030-4>
- French, A. D., & Santiago Cintrón, M. (2013). Cellulose polymorphy, crystallite size, and the Segal Crystallinity Index. *Cellulose*, 20(1), 583-588. <https://doi.org/10.1007/s10570-012-9833-y>
- Gabhane, J., Prince William, S. P. M., Gadhe, A., Rath, R., Vaidya, A. N., & Wate, S. (2014). Pretreatment of banana agricultural waste for bio-ethanol production: Individual and interactive effects of acid and alkali pretreatments with autoclaving, microwave heating and ultrasonication. *Waste Management*, 34(2), 498-503. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2013.10.013>
- Garcia M, J. C., MacHimura, T., & Matsui, T. (2012). Optimizing plant allocation for bioethanol production from agro-residues considering CO2 emission and energy demand-supply balance: A case study in ecuador. *Waste and Biomass Valorization*, 3(4), 435-442. <https://doi.org/10.1007/s12649-012-9138-2>
- 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>
- Garlapati, V. K., Chandel, A. K., Kumar, S. P. J., Sharma, S., Sevda, S., Ingle, A. P., & Pant, D. (2020). Circular economy aspects of lignin: Towards a lignocellulose biorefinery. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 130, 109977. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109977>
- Gawel, E., Pannicke, N., & Hagemann, N. (2019). A path transition towards a bioeconomy-The crucial role of sustainability. *Sustainability (Switzerland)*, 11(11). <https://doi.org/10.3390/su11113005>
- Geissdoerfer, M., Savaget, P., Bocken, N. M. P., & Hultink, E. J. (2017). The Circular Economy – A new sustainability paradigm? *Journal of Cleaner Production*, 143, 757-768.

<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.12.048>

Ghozali, M., Meliana, Y., Masruchin, N., Rusmana, D., & Chalid, M. (2024). Preparation and characterization of *Arenga pinnata* thermoplastic starch/bacterial cellulose nanofiber biocomposites via *in-situ* twin screw extrusion. *International Journal of Biological Macromolecules*, 261, 129792. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129792>

Giampietro, M. (2019). On the Circular Bioeconomy and Decoupling: Implications for Sustainable Growth. *Ecological Economics*, 162, 143-156.  
<https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2019.05.001>

Ginni, G., Kavitha, S., Yukesh Kannah, R., Bhatia, S. K., Adish Kumar, S., Rajkumar, M., Kumar, G., Pugazhendhi, A., Chi, N. T. L., & Rajesh Banu, J. (2021). Valorization of agricultural residues: Different biorefinery routes. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4). <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105435>

Gomes, F. P., Silva, N. H. C. S., Trovatti, E., Serafim, L. S., Duarte, M. F., Silvestre, A. J. D., Neto, C. P., & Freire, C. S. R. (2013). Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter sacchari* using dry olive mill residue. *Biomass and Bioenergy*, 55, 205-211. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.02.004>

Gómez-García, R., Campos, D. A., Aguilar, C. N., Madureira, A. R., & Pintado, M. (2021). Valorisation of food agro-industrial by-products: From the past to the present and perspectives. *Journal of Environmental Management*, 299, 113571.  
<https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.113571>

Gonçalves Filho, L. C., Fischer, G. A. A., Sellin, N., Marangoni, C., & Souza, O. (2013). Hydrolysis of banana tree pseudostem and second-generation ethanol production by *saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Environmental Science and Engineering A*, 2, 65-69.

Gottinger, A., Ladu, L., & Quitzow, R. (2020). Studying the transition towards a circular bioeconomy—A systematic literature review on transition studies and existing barriers. *Sustainability (Switzerland)*, 12(21), 1-27. <https://doi.org/10.3390/su12218990>

Govumoni, S. P., Koti, S., Kothagouni, S. Y., Venkateshwar, S., & Linga, V. R. (2013).

- Evaluation of pretreatment methods for enzymatic saccharification of wheat straw for bioethanol production. *Carbohydrate Polymers*, 91(2), 646-650.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.08.019>
- Granato, D., de Araújo Calado, V. M., & Jarvis, B. (2014). Observations on the use of statistical methods in Food Science and Technology. *Food Research International*, 55, 137-149.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.10.024>
- Gromovkyh, T. I., Sadykova, V. S., Lutcenko, S. V., Dmitrenok, A. S., Feldman, N. B., Danilchuk, T. N., & Kashirin, V. V. (2017). Bacterial cellulose synthesized by *Gluconacetobacter hansenii* for medical applications. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 53(1), 60-67. <https://doi.org/10.1134/S0003683817010094>
- Guerrero, A. B., Aguado, P. L., Sánchez, J., & Curt, M. D. (2016). GIS-Based Assessment of Banana Residual Biomass Potential for Ethanol Production and Power Generation: A Case Study. *Waste and Biomass Valorization*, 7(2), 405-415.  
<https://doi.org/10.1007/s12649-015-9455-3>
- Guerrero, A. B., Ballesteros, I., & Ballesteros, M. (2018). The potential of agricultural banana waste for bioethanol production. *Fuel*, 213, 176-185.  
<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.10.105>
- Guerrero, A. B., & Muñoz, E. (2018). Life cycle assessment of second generation ethanol derived from banana agricultural waste: Environmental impacts and energy balance. *Journal of Cleaner Production*, 174, 710-717.  
<https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.10.298>
- Guo, L., Tan, B., Li, W., Li, Q., Zheng, X., & Obot, I. B. (2021). Banana leaves water extracts as inhibitor for X70 steel corrosion in HCl medium. *Journal of Molecular Liquids*, 327, 114828. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114828>
- Halib, N., & Amin, M. C. I. M. (2012). *Physicochemical Properties And Characterization Of Nata De Coco From Local Food Industries As A Source Of Cellulose*.  
<http://localhost:8080/jspui/handle/123456789/9260>
- Hamed, D. A., Maghrawy, H. H., & Abdel Kareem, H. (2022). Biosynthesis of bacterial cellulose

- nanofibrils in black tea media by a symbiotic culture of bacteria and yeast isolated from commercial kombucha beverage. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(2), 48. <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03485-0>
- Haroni, S., Zaki Dizaji, H., Bahrami, H., & González Alriols, M. (2021). Sustainable production of cellulose nanofiber from sugarcane trash: A quality and life cycle assessment. *Industrial Crops and Products*, 173, 114084. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.114084>
- Härri, A., Levänen, J., & Koistinen, K. (2020). Marginalized small-scale farmers as actors in just circular-economy transitions: Exploring opportunities to circulate crop residue as raw material in India. *Sustainability (Switzerland)*, 12(24), 1-18. <https://doi.org/10.3390/su122410355>
- Hassan, S. S., Williams, G. A., & Jaiswal, A. K. (2019). Moving towards the second generation of lignocellulosic biorefineries in the EU: Drivers, challenges, and opportunities. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 101, 590-599. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.11.041>
- Hatiboruah, D., Devi, D. Y., Namsa, N. D., & Nath, P. (2020). Turbidimetric analysis of growth kinetics of bacteria in the laboratory environment using smartphone. *Journal of Biophotonics*, 13(4). <https://doi.org/10.1002/jbio.201960159>
- He, Y., Yang, Y., Lin, Q., Jin, T., Zang, X., Yun, T., Ding, Z., Rekaby, S. A., Zhao, Z., & Eissa, M. A. (2023). Physio-biochemical evaluation of Si-rich biochar amendment to improve the salt stress tolerance of Grand Nain and Williams banana genotypes. *Industrial Crops and Products*, 204, 117333. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117333>
- Heidarian, P., Behzad, T., Karimi, K., & Sain, M. (2018). Properties investigation of recycled polylactic acid reinforced by cellulose nanofibrils isolated from bagasse. *Polymer Composites*, 39(10), 3740-3749. <https://doi.org/10.1002/pc.24404>
- Helrich, K. (Ed.). (1990). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (15th ed). Association of Official Analytical Chemists.
- Hestrin, S., & Schramm, M. (1954). Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. II.



- Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. *The Biochemical Journal*, 58(2), 345-352. <https://doi.org/10.1042/bj0580345>
- Hill, J., Nelson, E., Tilman, D., Polasky, S., & Tiffany, D. (2006). Environmental, economic, and energetic costs and benefits of biodiesel and ethanol biofuels. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(30), 11206-11210. <https://doi.org/10.1073/pnas.0604600103>
- Hoigné, J., & Bader, H. (1983). Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water-I. Non-dissociating organic compounds. *Water Research*, 17(2), 173-183. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(83\)90098-2](https://doi.org/10.1016/0043-1354(83)90098-2)
- Hooi, S. L., Dwiyanto, J., Toh, K. Y., Tan, G., Chong, C. W., Lee, J. W. J., & Lim, J. (2023). The microbial composition and functional roles of different kombucha products in Singapore. *CyTA - Journal of Food*, 21(1), 269-274. <https://doi.org/10.1080/19476337.2023.2190794>
- Hossain, M. M., Majumder, K. A., Islam, M., & Nayeem, A. A. (2019). Study on ambient particulate matter (PM 2.5 ) with different mode of transportation in Dhaka City, Bangladesh. *Am. J. Pure Appl. Sci*, 1(4), 12-19.
- Hossain, N., Razali, A. N., Mahlia, T. M. I., Chowdhury, T., Chowdhury, H., Ong, H. C., Shamsuddin, A. H., & Silitonga, A. S. (2019). Experimental Investigation, Techno-Economic Analysis and Environmental Impact of Bioethanol Production from Banana Stem. *Energies*, 12(20), Article 20. <https://doi.org/10.3390/en12203947>
- IMPADESA. (2016). *Fibra de Banano*. <https://www.inpadesa.com.ec/fibra-de-banano/>
- Instituto Textil Nacional AC. (2019). Innovación en Textiles Sustentables: Banana Fibre. *Instituto Textil Nacional*. <https://www.institutotextilnacional.com/2019/06/20/innovacion-en-textiles-sustentables-banana-fibre/>
- Iriarte, A., Almeida, M. G., & Villalobos, P. (2014). Carbon footprint of premium quality export bananas: Case study in Ecuador, the world's largest exporter. *Science of the Total Environment*, 472, 1082-1088. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.072>
- ISO. (2006). *ISO 14040:2006(es), Gestión ambiental—Análisis del ciclo de vida—Principios y*

*marco de referencia*. <https://www.iso.org/obp/ui#iso:std:iso:14040:ed-2:v1:es>

- Ito, K., Inoue, S., Hiraku, Y., & Kawanishi, S. (2005). Mechanism of site-specific DNA damage induced by ozone. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 585(1-2), 60-70. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2005.04.004>
- Jain, N., Bhatia, A., & Pathak, H. (2014). Emission of Air Pollutants from Crop Residue Burning in India. *Aerosol and Air Quality Research*, 14(1), 422-430. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2013.01.0031>
- Jayanna, N. K. K., Basaiah, T., & Krishnappa, P. (2021). Effectiveness of *Trichoderma viride* and *Phanerochaete chrysosporium* NCIM 1197 Pretreatment for Second Generation Ethanol Production from Areca Nut (*Areca catechu* L.) Husk by Separate Hydrolysis and Fermentation (SHF) Process. *Research Journal of Biotechnology*, 16(3), 95-104.
- Jebashalomi, V., Emmanuel Charles, P., & Rajaram, R. (2024). Microbial degradation of low-density polyethylene (LDPE) and polystyrene using *Bacillus cereus* (OR268710) isolated from plastic-polluted tropical coastal environment. *Science of The Total Environment*, 924, 171580. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171580>
- Jiamsawat, C., Wasanapiarnpong, T., & Srikulkit, K. (2022). Improving carbon yield of bacterial cellulose derived carbon by phosphorus/nitrogen doping. *Materials Today Communications*, 33, 104382. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2022.104382>
- Jiao, D., Shi, C., Yuan, Q., An, X., & Liu, Y. (2018). Mixture design of concrete using simplex centroid design method. *Cement and Concrete Composites*, 89, 76-88. <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2018.03.001>
- Jonas, R., & Farah, L. F. (1998). Production and application of microbial cellulose. *Polymer Degradation and Stability*, 59(1), 101-106. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(97\)00197-3](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(97)00197-3)
- Jumaidin, R., Diah, N. A., Ilyas, R. A., Alamjuri, R. H., & Yusof, F. A. M. (2021). Processing and Characterisation of Banana Leaf Fibre Reinforced Thermoplastic Cassava Starch Composites. *Polymers*, 13(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/polym13091420>
- Jumaidin, R., Sapuan, S. M., Jawaid, M., Ishak, M. R., & Sahari, J. (2016). Characteristics of

thermoplastic sugar palm Starch/Agar blend: Thermal, tensile, and physical properties.

*International Journal of Biological Macromolecules*, 89, 575-581.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.028>

Jung, H.-I., Lee, O.-M., Jeong, J.-H., Jeon, Y.-D., Park, K.-H., Kim, H.-S., An, W.-G., & Son, H.-

J. (2010). Production and Characterization of Cellulose by *Acetobacter* sp. V6 Using a

Cost-Effective Molasses–Corn Steep Liquor Medium. *Applied Biochemistry and*

*Biotechnology*, 162(2), 486-497. <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8759-9>

Kamal, T., Ul-Islam, M., Fatima, A., Ullah, M. W., & Manan, S. (2022). Cost-Effective Synthesis

of Bacterial Cellulose and Its Applications in the Food and Environmental Sectors. *Gels*,

8(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/gels8090552>

Kapp, J. M., & Sumner, W. (2019). Kombucha: A systematic review of the empirical evidence

of human health benefit. *Annals of Epidemiology*, 30, 66-70.

<https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2018.11.001>

Kaushal, L. A., & Prashar, A. (2021). Agricultural crop residue burning and its environmental

impacts and potential causes – case of northwest India. *Journal of Environmental*

*Planning and Management*, 64(3), 464-484.

<https://doi.org/10.1080/09640568.2020.1767044>

Khanali, M., Mobli, H., & Hosseinzadeh-Bandbafha, H. (2017). Modeling of yield and

environmental impact categories in tea processing units based on artificial neural

networks. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(34), 26324-26340.

<https://doi.org/10.1007/s11356-017-0234-5>

Khattak, W. A., Khan, T., Ul-Islam, M., Ullah, M. W., Khan, S., Wahid, F., & Park, J. K. (2015).

Production, characterization and biological features of bacterial cellulose from scum

obtained during preparation of sugarcane jaggery (gur). *Journal of Food Science and*

*Technology*, 52(12), 8343-8349. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1936-7>

Kilmanoglu, H., Yigit Cinar, A., & Durak, M. Z. (2024). Evaluation of microbiota-induced

changes in biochemical, sensory properties and volatile profile of kombucha produced

by reformed microbial community. *Food Chemistry: X*, 22.

<https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101469>

- Kim, Y., Lee, K.-G., & Kim, M. K. (2016). Volatile and non-volatile compounds in green tea affected in harvesting time and their correlation to consumer preference. *Journal of Food Science and Technology*, 53(10), 3735-3743. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2349-y>
- Kiran V, G., Varsha A, K., M, V., Govindaraj, V., M, A., N, V., M, G., Nithila, E. E., Bebin, M., Prasath, T. A., & Chezhiyan, P. (2022). Synthesis and Characterization of Banana Peel Starch-based Bioplastic for Intravenous Tubes Preparation. *Materials Today Communications*, 33, 104464. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2022.104464>
- Kircher, M. (2014). The Emerging bioeconomy: Industrial drivers, global impact, and international strategies. *Industrial Biotechnology*, 10(1), 11-18. <https://doi.org/10.1089/ind.2014.1500>
- Klemm, D., Schumann, D., Kramer, F., Heßler, N., Hornung, M., Schmauder, H.-P., & Marsch, S. (2006). Nanocelluloses as Innovative Polymers in Research and Application. En D. Klemm (Ed.), *Polysaccharides II* (Vol. 205, pp. 49-96). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/12\\_097](https://doi.org/10.1007/12_097)
- Kookos, I. K., Koutinas, A., & Vlysidis, A. (2019). Life cycle assessment of bioprocessing schemes for poly(3-hydroxybutyrate) production using soybean oil and sucrose as carbon sources. En *Resources, Conservation and Recycling* (Vol. 141, pp. 317-328). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2018.10.025>
- Kumar, M., Kumar, V., & Saran, S. (2024). Current research and advances in the molecular aspect of bacterial cellulose synthesis with special emphasis on the production of bacterial cellulose from waste and its food applications. *Cellulose*, 31(6), 3323-3351. <https://doi.org/10.1007/s10570-024-05842-8>
- Laavanya, D., Shirkole, S., & Balasubramanian, P. (2021). Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation. *Journal of Cleaner Production*, 295, 126454. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.126454>
- Laibach, N., Börner, J., & Bröring, S. (2019). Exploring the future of the bioeconomy: An

expert-based scoping study examining key enabling technology fields with potential to foster the transition toward a bio-based economy. *Technology in Society*, 58.

<https://doi.org/10.1016/j.techsoc.2019.03.001>

Landis, E. A., Fogarty, E., Edwards, J. C., Popa, O., Eren, A. M., & Wolfe, B. E. (2022).

Microbial Diversity and Interaction Specificity in Kombucha Tea Fermentations.

*mSystems*, 7(3). <https://doi.org/10.1128/msystems.00157-22>

Lawson, J., & Willden, C. (2016). Mixture Experiments in R Using mixexp. *Journal of Statistical*

*Software*, 72, 1-20. <https://doi.org/10.18637/jss.v072.c02>

Leal Silva, J. F., Nakasu, P. Y. S., Costa, A. C. da, Maciel Filho, R., & Rabelo, S. C. (2022).

Techno-economic analysis of the production of 2G ethanol and technical lignin via a protic ionic liquid pretreatment of sugarcane bagasse. *Industrial Crops and Products*,

189, 115788. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115788>

Lee, J., An, H.-E., Lee, K. H., Kim, S., Park, C., Kim, C.-B., & Yoo, H. Y. (2024). Identification of *Gluconacetobacter xylinus* LYP25 and application to bacterial cellulose production in biomass hydrolysate with acetic acid. *International Journal of Biological*

*Macromolecules*, 261, 129597. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129597>

Leonarski, E., Cesca, K., Borges, O. M. A., de Oliveira, D., & Poletto, P. (2021). Typical kombucha fermentation: Kinetic evaluation of beverage and morphological

characterization of bacterial cellulose. *Journal of Food Processing and Preservation*,

45(12), e16100. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16100>

Leonarski, E., Martini, G. V., Cesca, K., DA SILVA, M. F., Goldbeck, R., & Poletto, P. (2023).

ENZYMATIC UPCYCLING OF BACTERIAL CELLULOSE FROM KOMBUCHA TO OBTAIN CELLOBIOSE. *Cellulose Chemistry and Technology*, 57(1-2), 125-132.

<https://doi.org/10.35812/CelluloseChemTechnol.2023.57.13>

Li, C., Aston, J. E., Lacey, J. A., Thompson, V. S., & Thompson, D. N. (2016). Impact of feedstock quality and variation on biochemical and thermochemical conversion.

*Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 65, 525-536.

<https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.06.063>

- Li, X., Chen, Z., Wang, J., Mu, J., Ma, Q., & Lu, X. (2023). Symbiosis of acetic acid bacteria and yeast isolated from black tea fungus mimicking the kombucha environment in bacterial cellulose synthesis. *International Food Research Journal*, 30(6), 1504-1518. <https://doi.org/10.47836/ifrj.30.6.13>
- Li, Z.-Y., Azi, F., Ge, Z.-W., Liu, Y.-F., Yin, X.-T., & Dong, M.-S. (2021). Bio-conversion of kitchen waste into bacterial cellulose using a new multiple carbon utilizing *Komagataeibacter rhaeticus*: Fermentation profiles and genome-wide analysis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 191, 211-221. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.077>
- Licari, A., Monlau, F., Solhy, A., Buche, P., & Barakat, A. (2016). Comparison of various milling modes combined to the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass for bioenergy production: Glucose yield and energy efficiency. *Energy*, 102, 335-342. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2016.02.083>
- Lin, S.-P., Huang, Y.-H., Hsu, K.-D., Lai, Y.-J., Chen, Y.-K., & Cheng, K.-C. (2016). Isolation and identification of cellulose-producing strain *Komagataeibacter intermedius* from fermented fruit juice. *Carbohydrate Polymers*, 151, 827-833. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.032>
- Lin, Z., Huang, H., Zhang, H., Zhang, L., Yan, L., & Chen, J. (2010). Ball milling pretreatment of corn stover for enhancing the efficiency of enzymatic hydrolysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162(7), 1872-1880. <https://doi.org/10.1007/s12010-010-8965-5>
- Linzmeier, P., Ramlow, H., Souza, O., Sellin, N., & Marangoni, C. (2019). Effects of by-products of fermentation of banana pseudostem on ethanol separation by pervaporation. *Biotechnology Progress*, 35(4). <https://doi.org/10.1002/btpr.2830>
- Liu, X., Cao, L., Wang, S., Huang, L., Zhang, Y., Tian, M., Li, X., & Zhang, J. (2023). Isolation and characterization of bacterial cellulose produced from soybean whey and soybean hydrolyzate. *Scientific Reports*, 13(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42304-w>
- Liu, Z., Li, M., Weng, Y., Wong, T. N., & Tan, M. J. (2019). Mixture Design Approach to

optimize the rheological properties of the material used in 3D cementitious material printing. *Construction and Building Materials*, 198, 245-255.

<https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2018.11.252>

Lokko, Y., Heijde, M., Schebesta, K., Scholtès, P., Van Montagu, M., & Giacca, M. (2018).

Biotechnology and the bioeconomy—Towards inclusive and sustainable industrial development. *New Biotechnology*, 40, 5-10. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2017.06.005>

Luo, M.-T., Zhao, C., Huang, C., Chen, X.-F., Huang, Q.-L., Qi, G.-X., Tian, L.-L., Xiong, L., Li, H.-L., & Chen, X.-D. (2017). Efficient Using Durian Shell Hydrolysate as Low-Cost Substrate for Bacterial Cellulose Production by *Gluconacetobacter xylinus*. En *Indian Journal of Microbiology* (Vol. 57, Número 4, pp. 393-399). Springer India.

<https://doi.org/10.1007/s12088-017-0681-1>

Machado, R. T. A., Meneguim, A. B., Sábio, R. M., Franco, D. F., Antonio, S. G., Gutierrez, J., Tercjak, A., Berretta, A. A., Ribeiro, S. J. L., Lazarini, S. C., Lustri, W. R., & Barud, H. S. (2018). *Komagataeibacter rhaeticus* grown in sugarcane molasses-supplemented culture medium as a strategy for enhancing bacterial cellulose production. *Industrial Crops and Products*, 122, 637-646. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.048>

Mago, M., Yadav, A., Gupta, R., & Garg, V. K. (2021). Management of banana crop waste biomass using vermicomposting technology. *Bioresource Technology*, 326, 124742.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.124742>

Mahardika, M., Amelia, D., Azril, & Syafri, E. (2023). Applications of nanocellulose and its composites in bio packaging-based starch. *Materials Today: Proceedings*, 74, 415-418.

<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.11.138>

Manan, S., Ullah, M. W., Ul-Islam, M., Shi, Z., Gauthier, M., & Yang, G. (2022). Bacterial cellulose: Molecular regulation of biosynthesis, supramolecular assembly, and tailored structural and functional properties. *Progress in Materials Science*, 129, 100972.

<https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2022.100972>

Manuel, L., Chiziane, O., Mandhlate, G., Hartley, F., & Tostão, E. (2021). Impact of climate change on the agriculture sector and household welfare in Mozambique: An analysis

- based on a dynamic computable general equilibrium model. *Climatic Change*, 167(1), 6.  
<https://doi.org/10.1007/s10584-021-03139-4>
- Marie-Magdeleine, C., Boval, M., Philibert, L., Borde, A., & Archimède, H. (2010). Effect of banana foliage (*Musa x paradisiaca*) on nutrition, parasite infection and growth of lambs. *Livestock Science*, 131(2), 234-239. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.04.006>
- Martínez, E., Posada, L., Botero, J. C., Rios-Arango, J. A., Zapata-Benabithé, Z., López, S., Molina-Ramírez, C., Osorio, M. A., & Castro, C. I. (2023). *Nata de fique*: A cost-effective alternative for the large-scale production of bacterial nanocellulose. *Industrial Crops and Products*, 192, 116015. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.116015>
- Martínez-Ruano, J. A., Caballero-Galván, A. S., Restrepo-Serna, D. L., & Cardona, C. A. (2018). Techno-economic and environmental assessment of biogas production from banana peel (*Musa paradisiaca*) in a biorefinery concept. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(36), 35971-35980. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1848-y>
- 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>
- Masek, A., & Kosmalka, A. (2022). Technological limitations in obtaining and using cellulose biocomposites. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10.  
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2022.912052>
- Mata, M. A. E., Oguis, G. F. R., Ligue, K. D. B., Gamot, R. M. T., Abaro, K. R. G., Fordan, Y. C., & Digal, L. N. (2020). Model simulation approach for exploring profitability of small-scale cavendish banana farmers in davao region from harvest allocation to enterprises. *Philippine Journal of Science*, 149(2), 283-298.
- Mboumboue, E., & Njomo, D. (2018). Biomass resources assessment and bioenergy generation for a clean and sustainable development in Cameroon. *Biomass and Bioenergy*, 118, 16-23. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2018.08.002>
- Miller, G. L. (2002, mayo 1). *Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing*



*Sugar* (world) [Research-article]. ACS Publications; American Chemical Society.

<https://doi.org/10.1021/ac60147a030>

Mim, N. J., Meraz, M. M., Islam, M. H., Noroozinejad Farsangi, E., Mehedi, M. T., Arafin, S. A. K., & Shrestha, R. K. (2023). Eco-friendly and cost-effective self-compacting concrete using waste banana leaf ash. *Journal of Building Engineering*, *64*, 105581.

<https://doi.org/10.1016/j.jobbe.2022.105581>

Mishra, S., Singh, P. K., Pattnaik, R., Kumar, S., Ojha, S. K., Srichandan, H., Parhi, P. K., Jyothi, R. K., & Sarangi, P. K. (2022). Biochemistry, Synthesis, and Applications of Bacterial Cellulose: A Review. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, *10*.

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fbioe.2022.780409>

Mohamed, G. R., Mahmoud, R. K., Fahim, I. S., Shaban, M., Abd El-Salam, H. M., & Mahmoud, H. M. (2022). Bio-composite Thermal Insulation Materials Based on Banana Leaves Fibers and Polystyrene: Physical and Thermal Performance. *Journal of Natural Fibers*, *19*(13), 4806-4821. <https://doi.org/10.1080/15440478.2020.1870628>

Mohanty, A. K., Misra, M., & Hinrichsen, G. (2000). Biofibres, biodegradable polymers and biocomposites: An overview. *Macromolecular Materials and Engineering*, *276-277*(1), 1-24. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1439-2054\(20000301\)276:1<1::AID-MAME1>3.0.CO;2-W](https://doi.org/10.1002/(SICI)1439-2054(20000301)276:1<1::AID-MAME1>3.0.CO;2-W)

Mohd Ariff, R., Chai, X. Y., Chang, L. S., Fazry, S., Othman, B. A., Babji, A. S., & Lim, S. J. (2023). Recent trends in Kombucha: Conventional and alternative fermentation in development of novel beverage. *Food Bioscience*, *53*, 102714.

<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102714>

Mostashari, P., Gavahian, M., Jafarzadeh, S., Guo, J.-H., Hadidi, M., Pandiselvam, R., Huseyn, E., & Mousavi Khaneghah, A. (2022). Ozone in wineries and wine processing: A review of the benefits, application, and perspectives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *21*(4), 3129-3152. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12971>

Mufidah, E., Prihanto, A. A., & Wakayama, M. (2017). Optimization of L-lactic acid production from banana peel by multiple parallel fermentation with *Bacillus licheniformis* and

*Aspergillus awamori*. *Food Science and Technology Research*, 23(1), 137-143.

<https://doi.org/10.3136/fstr.23.137>

Muhammed, A. P., Thangarasu, S., Manoharan, R. K., & Oh, T. H. (2024). Ex-situ fabrication of engineered green network of multifaceted bacterial cellulose film with enhanced antimicrobial properties for post-harvest preservation of table grapes. *Food Packaging and Shelf Life*, 43, 101284. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2024.101284>

Mujtaba, M., Fernandes Fraceto, L., Fazeli, M., Mukherjee, S., Savassa, S. M., Araujo de Medeiros, G., do Espírito Santo Pereira, A., Mancini, S. D., Lipponen, J., & Vilaplana, F. (2023). Lignocellulosic biomass from agricultural waste to the circular economy: A review with focus on biofuels, biocomposites and bioplastics. *Journal of Cleaner Production*, 402, 136815. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.136815>

Munagala, M., Shastri, Y., Nalawade, K., Konde, K., & Patil, S. (2021). Life cycle and economic assessment of sugarcane bagasse valorization to lactic acid. *Waste Management*, 126, 52-64. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.02.052>

Muscio, A., & Sisto, R. (2020). Are agri-food systems really switching to a circular economy model? Implications for European research and innovation policy. *Sustainability (Switzerland)*, 12(14). <https://doi.org/10.3390/su12145554>

Naeem, M. A., Siddiqui, Q., Khan, M. R., Mushtaq, M., Wasim, M., Farooq, A., Naveed, T., & Wei, Q. (2022). Bacterial cellulose-natural fiber composites produced by fibers extracted from banana peel waste. *Journal of Industrial Textiles*, 51(1\_suppl), 990S-1006S. <https://doi.org/10.1177/1528083720925848>

Naranjo, J. M., Cardona, C. A., & Higuera, J. C. (2014). Use of residual banana for polyhydroxybutyrate (PHB) production: Case of study in an integrated biorefinery. *Waste Management*, 34(12), 2634-2640. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.09.007>

Nascimento, F. X., Torres, C. A. V., Freitas, F., Reis, M. A. M., & Crespo, M. T. B. (2021). Functional and genomic characterization of *Komagataeibacter uvaceti* FXV3, a multiple stress resistant bacterium producing increased levels of cellulose. *Biotechnology Reports*, 30, e00606. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00606>

- Naveen, D., Shiva, K. N., Kumar, P. S., Kamaraju, K., Sivananth, C., Sivasankari, R., & Uma, S. (2023). Physico-chemical, nutritional and sensory properties of cookies substituted with banana peel powder from three different traditional varieties. *Journal of Environmental Biology*, 44, 818-825. <https://doi.org/10.22438/jeb/44/6/5022>
- Neves, E. Z., Kumineck Junior, S. R., Katrucha, G. P., Silveira, V. F., Silveira, M. L. L., Pezzin, A. P. T., Schneider, A. L. dos S., Garcia, M. C. F., & Apati, G. P. (2022). Development of Bacterial Cellulose Membranes Incorporated with Plant Extracts. *Macromolecular Symposia*, 406(1), 2200031. <https://doi.org/10.1002/masy.202200031>
- Ng, H. S., Kee, P. E., Yim, H. S., Chen, P.-T., Wei, Y.-H., & Chi-Wei Lan, J. (2020). Recent advances on the sustainable approaches for conversion and reutilization of food wastes to valuable bioproducts. *Bioresource Technology*, 302. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122889>
- Nguyen, H. T., Saha, N., Ngwabebhoh, F. A., Zandrea, O., Saha, T., & Saha, P. (2021). Kombucha-derived bacterial cellulose from diverse wastes: A prudent leather alternative. *Cellulose*, 28(14), 9335-9353. <https://doi.org/10.1007/s10570-021-04100-5>
- Nurcholis, W., Marliani, N., Asyhar, R., & Minarni, M. (2023). Optimized Solvents for the Maceration of Phenolic Antioxidants from Curcuma xanthorrhiza Rhizome using a Simplex Centroid Design. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 15(1), 35. [https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs\\_185\\_23](https://doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_185_23)
- Nwuzor, I. C., Oyeoka, H. C., Nwanonyi, S. C., & Ihekweme, G. O. (2023). Biodegradation of low-density polyethylene film/plasticized cassava starch blends with central composite design for optimal environmental pollution control. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 9, 100251. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2023.100251>
- Okoko, A., Reinhard, J., von Dach, S. W., Zah, R., Kiteme, B., Owuor, S., & Ehrensperger, A. (2017). The carbon footprints of alternative value chains for biomass energy for cooking in Kenya and Tanzania. *Sustainable Energy Technologies and Assessments*, 22, 124-133. <https://doi.org/10.1016/j.seta.2017.02.017>
- Oleksiak, B., & Poloczek, R. (2024). Selected Aspects of the Environmental Analysis of HDPE

- Film Using the LCA Method. En A. Burduk, A. D. L. Batako, J. Machado, R. Wyczółkowski, E. Dostatni, & I. Rojek (Eds.), *Intelligent Systems in Production Engineering and Maintenance III* (pp. 406-414). Springer Nature Switzerland.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-031-44282-7\\_32](https://doi.org/10.1007/978-3-031-44282-7_32)
- Oliveira, L., Cordeiro, N., Evtuguin, D. V., Torres, I. C., & Silvestre, A. J. D. (2007). Chemical composition of different morphological parts from 'Dwarf Cavendish' banana plant and their potential as a non-wood renewable source of natural products. *Industrial Crops and Products*, 26(2), 163-172. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2007.03.002>
- Omran, A. A. B., Mohammed, A. A. B. A., Sapuan, S. M., Ilyas, R. A., Asyraf, M. R. M., Rahimian Kolor, S. S., & Petrú, M. (2021). Micro- and Nanocellulose in Polymer Composite Materials: A Review. *Polymers*, 13(2), 231.  
<https://doi.org/10.3390/polym13020231>
- ONU. (2022). *THE 17 GOALS | Sustainable Development*. <https://sdgs.un.org/goals>
- ONU. (2023). *Future Fibres: ¿Por qué fibras del futuro?*  
<https://www.fao.org/economic/futurefibres/pagina-principal-de-fibras-del-futuro/why/es/>
- Orsuwan, A., & Sothornvit, R. (2017). Development and characterization of banana flour film incorporated with montmorillonite and banana starch nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 174, 235-242. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.06.085>
- Orsuwan, A., & Sothornvit, R. (2018). Effect of banana and plasticizer types on mechanical, water barrier, and heat sealability of plasticized banana-based films. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), e13380. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13380>
- Ortiz-Ulloa, J. A., Abril-González, M. F., Pelaez-Samaniego, M. R., & Zalamea-Piedra, T. S. (2021). Biomass yield and carbon abatement potential of banana crops (*Musa* spp.) in Ecuador. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(15), 18741-18753.  
<https://doi.org/10.1007/s11356-020-09755-4>
- Oyeoka, H. C., Ewulonu, C. M., Nwuzor, I. C., Obele, C. M., & Nwabanne, J. T. (2021). Packaging and degradability properties of polyvinyl alcohol/gelatin nanocomposite films filled water hyacinth cellulose nanocrystals. *Journal of Bioresources and Bioproducts*,

6(2), 168-185. <https://doi.org/10.1016/j.jobab.2021.02.009>

Öz, Y. E., & Kalender, M. (2023). A novel static cultivation of bacterial cellulose production from sugar beet molasses: Series static culture (SSC) system. *International Journal of Biological Macromolecules*, 225, 1306-1314.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.11.190>

Pacheco, G., Nogueira, C. R., Meneguim, A. B., Trovatti, E., Silva, M. C. C., Machado, R. T. A., Ribeiro, S. J. L., da Silva Filho, E. C., & da S. Barud, H. (2017). Development and characterization of bacterial cellulose produced by cashew tree residues as alternative carbon source. *Industrial Crops and Products*, 107, 13-19.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.05.026>

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>

Pazmiño-Hernandez, M., Moreira, C. M., & Pullammanappallil, P. (2019). Feasibility assessment of waste banana peduncle as feedstock for biofuel production. *Biofuels*, 10(4), 473-484. <https://doi.org/10.1080/17597269.2017.1323321>

Penloglou, G., Basna, A., Pavlou, A., & Kiparissides, C. (2023). Techno-Economic Considerations on Nanocellulose's Future Progress: A Short Review. *Processes*, 11(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/pr11082312>

Pereira, E. H. D. S., Attallah, O. A., Tas, C. E., Chee, B. S., Freitas, F., Garcia, E. L., Auliffe, M. A. P. M., Mojicevic, M., Batista, M. N., Reis, M. A. M., & Fournet, M. B. (2024). Boosting bacterial nanocellulose production from chemically recycled post-consumer polyethylene terephthalate. *Sustainable Materials and Technologies*, 39, e00784.

<https://doi.org/10.1016/j.susmat.2023.e00784>

Peters, M. s., & Timmerhaus, K. D. (2018). *Plant design and economics for chemical engineers* (Vol. 5). McGraw-Hill International.

Phan, A. D. T., Flanagan, B. M., D'Arcy, B. R., & Gidley, M. J. (2017). Binding selectivity of

dietary polyphenols to different plant cell wall components: Quantification and mechanism. *Food Chemistry*, 233, 216-227.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.115>

Philp, J. (2018). The bioeconomy, the challenge of the century for policy makers. *New Biotechnology*, 40, 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2017.04.004>

Phirke, N. V., Patil, R. P., Chincholkar, S. B., & Kothari, R. M. (2001). Recycling of banana pseudostem waste for economical production of quality banana. *Resources, Conservation and Recycling*, 31(4), 347-353. [https://doi.org/10.1016/S0921-3449\(00\)00092-6](https://doi.org/10.1016/S0921-3449(00)00092-6)

Polverini, D. (2021). Regulating the circular economy within the ecodesign directive: Progress so far, methodological challenges and outlook. *Sustainable Production and Consumption*, 27, 1113-1123. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2021.02.023>

Popp, J., Kovács, S., Oláh, J., Divéki, Z., & Balázs, E. (2021). Bioeconomy: Biomass and biomass-based energy supply and demand. *New Biotechnology*, 60, 76-84. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2020.10.004>

Portela da Gama, F. M., & Dourado, F. (2018). Bacterial NanoCellulose: What future? *BioImpacts : BI*, 8(1), 1-3. <https://doi.org/10.15171/bi.2018.01>

Pradhan, S., Prabhakar, M. R., Karthika Parvathy, K. R., Dey, B., Jayaraman, S., Behera, B., & Paramasivan, B. (2023). Metagenomic and physicochemical analysis of Kombucha beverage produced from tea waste. *Journal of Food Science and Technology*, 60(3), 1088-1096. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05476-3>

Praveen, B., & Sharma, P. (2019). A review of literature on climate change and its impacts on agriculture productivity. *Journal of Public Affairs*, 19(4), e1960. <https://doi.org/10.1002/pa.1960>

Pryor, W. A., Giamalva, D. H., & Church, D. F. (1984). Kinetics of Ozonation. 2. Amino Acids and Model Compounds in Water and Comparisons to Rates in Nonpolar Solvents. *Journal of the American Chemical Society*, 106(23), 7094-7100. <https://doi.org/10.1021/ja00335a038>

- Puraikalan, Y. (2018). Characterization of Proximate, Phytochemical and Antioxidant Analysis of Banana (*Musa Sapientum*) Peels/Skins and Objective Evaluation of Ready to Eat /Cook Product Made With Banana Peels. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 6(2), 382-391.
- Rahman, S. S. A., Vaishnavi, T., Vidyasri, G. S., Sathya, K., Priyanka, P., Venkatachalam, P., & Karuppiah, S. (2021). Production of bacterial cellulose using *Gluconacetobacter kombuchae* immobilized on *Luffa aegyptiaca* support. *Scientific Reports*, 11(1), 2912. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82596-4>
- Rajagukguk, Y. V., & Arnold, M. (2021). Tempoyak: Fermented durian paste of Malay ethnic and its functional properties. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 23. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100297>
- Ramirez, A. D., Boero, A., Rivela, B., Melendres, A. M., Espinoza, S., & Salas, D. A. (2020). Life cycle methods to analyze the environmental sustainability of electricity generation in Ecuador: Is decarbonization the right path? *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 134, 110373. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110373>
- Ramli, R. N., Lee, C. K., & Kassim, M. A. (2020). Extraction and Characterization of Starch from Microalgae and Comparison with Commercial Corn Starch. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 716(1), 012012. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/716/1/012012>
- Rashid, Md. M., Das, A. K., Shams, Md. I., & Biswas, S. K. (2014). Physical and mechanical properties of medium density fiber board (MDF) fabricated from banana plant (*Musa sapientum*) stem and midrib. *Journal of the Indian Academy of Wood Science*, 11(1), 1-4. <https://doi.org/10.1007/s13196-014-0109-z>
- Rashidi, K., & Cullinane, K. (2019). Evaluating the sustainability of national logistics performance using Data Envelopment Analysis. *Transport Policy*, 74, 35-46. <https://doi.org/10.1016/j.tranpol.2018.11.014>
- Reiniati, I., Hrymak, A. N., & Margaritis, A. (2017). Recent developments in the production and applications of bacterial cellulose fibers and nanocrystals. *Critical Reviews in*

- Biotechnology*, 37(4), 510-524. <https://doi.org/10.1080/07388551.2016.1189871>
- Rodrigues, A. C., Fontão, A. I., Coelho, A., Leal, M., Soares da Silva, F. A. G., Wan, Y., Dourado, F., & Gama, M. (2019). Response surface statistical optimization of bacterial nanocellulose fermentation in static culture using a low-cost medium. *New Biotechnology*, 49, 19-27. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2018.12.002>
- Roibás, L., Elbehri, A., & Hospido, A. (2015). Evaluating the sustainability of Ecuadorian bananas: Carbon footprint, water usage and wealth distribution along the supply chain. *Sustainable Production and Consumption*, 2, 3-16. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2015.07.006>
- Rosen, Y., Mamane, H., & Gerchman, Y. (2019). Short Ozonation of Lignocellulosic Waste as Energetically Favorable Pretreatment. *Bioenergy Research*, 12(2), 292-301. <https://doi.org/10.1007/s12155-019-9962-3>
- Rosen, Y., Mamane, H., & Gerchman, Y. (2021). Immersed ozonation of agro-wastes as an effective pretreatment method in bioethanol production. *Renewable Energy*, 174, 382-390. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.04.047>
- Ross, P., Mayer, R., & Benziman, M. (1991). Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiological Reviews*, 55(1), 35-58. <https://doi.org/10.1128/mr.55.1.35-58.1991>
- Salazar, R., Salas-Gomez, V., Alvarado, A. A., & Baykara, H. (2022). Preparation, Characterization and Evaluation of Antibacterial Properties of Polylactide-Polyethylene Glycol-Chitosan Active Composite Films. *Polymers*, 14(11), Article 11. <https://doi.org/10.3390/polym14112266>
- Saleh, A. K., El-Gendi, H., Soliman, N. A., El-Zawawy, W. K., & Abdel-Fattah, Y. R. (2022). Bioprocess development for bacterial cellulose biosynthesis by novel *Lactiplantibacillus plantarum* isolate along with characterization and antimicrobial assessment of fabricated membrane. *Scientific Reports*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06117-7>
- Samer, M., Hijazi, O., Mohamed, B. A., Abdelsalam, E. M., Amer, M. A., Yacoub, I. H., Attia, Y. A., & Bernhardt, H. (2022). Environmental impact assessment of bioplastics production



- from agricultural crop residues. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 24(3), 815-827. <https://doi.org/10.1007/s10098-021-02145-5>
- Santoso, S. P., Chou, C.-C., Lin, S.-P., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., Hsieh, C.-W., & Cheng, K. C. (2020). Enhanced production of bacterial cellulose by *Komactobacter intermedius* using statistical modeling. *Cellulose*, 27(5), 2497-2509. <https://doi.org/10.1007/s10570-019-02961-5>
- Sarkar, D., Prajapati, S., Poddar, K., & Sarkar, A. (2019). Production of ethanol by *Enterobacter* sp. EtK3 during fruit waste biotransformation. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 145. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104795>
- Scapin, S. M. N., Souza, F. H. M., Zanphorlin, L. M., De Almeida, T. S., Sade, Y. B., Cardoso, A. M., Pinheiro, G. L., & Murakami, M. T. (2017). Structure and function of a novel GH8 endoglucanase from the bacterial cellulose synthase complex of *Raoultella ornithinolytica*. *PLoS ONE*, 12(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176550>
- Segal, L., Creely, J. J., Martin, A. E., & 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>
- Seri, S. P., Kouadio, D. L. M., Kabran, A. F., Gnonhourri, P., Attioua, K. B., & Turquin, L. (2022). Phytochemical Screening and Nematicidal Activity of Lixivate from Plantain and Banana Rachis. *International Journal of Phytopathology*, 11(2), 207-213. <https://doi.org/10.33687/phytopath.011.02.4278>
- Sharma, A., Thakur, M., Bhattacharya, M., Mandal, T., & Goswami, S. (2019). Commercial application of cellulose nano-composites – A review. *Biotechnology Reports*, 21, e00316. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00316>
- Shi, R., & Guest, J. S. (2020). BioSTEAM-LCA: An Integrated Modeling Framework for Agile Life Cycle Assessment of Biorefineries under Uncertainty. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(51), 18903-18914. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c05998>
- Shimizu, F. L., Monteiro, P. Q., Ghiraldi, P. H. C., Melati, R. B., Pagnocca, F. C., Souza, W. D.,

- Sant'Anna, C., & Brienzo, M. (2018). Acid, alkali and peroxide pretreatments increase the cellulose accessibility and glucose yield of banana pseudostem. *Industrial Crops and Products*, 115, 62-68. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.024>
- Sijabat, E. K., Nuruddin, A., Aditiawati, P., & Purwasasmita, B. S. (2019). *Synthesis and Characterization of Bacterial Nanocellulose from Banana Peel for Water Filtration Membrane Application*. 1230(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1230/1/012085>
- Sinanoglou, V. J., Tsiaka, T., Aouant, K., Mouka, E., Ladika, G., Kritsi, E., Konteles, S. J., Ioannou, A.-G., Zoumpoulakis, P., Strati, I. F., & Cavouras, D. (2023). Quality Assessment of Banana Ripening Stages by Combining Analytical Methods and Image Analysis. *Applied Sciences*, 13(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/app13063533>
- Singh, R. K., Pandey, D., Patil, T., & Sawarkar, A. N. (2020). Pyrolysis of banana leaves biomass: Physico-chemical characterization, thermal decomposition behavior, kinetic and thermodynamic analyses. *Bioresource Technology*, 310, 123464. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123464>
- Singhania, R. R., Patel, A. K., Tseng, Y.-S., Kumar, V., Chen, C.-W., Haldar, D., Saini, J. K., & Dong, C.-D. (2022). Developments in bioprocess for bacterial cellulose production. En *Bioresource Technology* (Vol. 344). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126343>
- Skiba, E. A., Shavyrkina, N. A., Skiba, M. A., Mironova, G. F., & Budaeva, V. V. (2023). Biosynthesis of Bacterial Nanocellulose from Low-Cost Cellulosic Feedstocks: Effect of Microbial Producer. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(18), Article 18. <https://doi.org/10.3390/ijms241814401>
- Solomon, B. D., Banerjee, A., Acevedo, A., Halvorsen, K. E., & Eastmond, A. (2015). Policies for the Sustainable Development of Biofuels in the Pan American Region: A Review and Synthesis of Five Countries. *Environmental Management*, 56(6), 1276-1294. <https://doi.org/10.1007/s00267-014-0424-6>
- Somerville, C., Youngs, H., Taylor, C., Davis, S. C., & Long, S. P. (2010). Feedstocks for Lignocellulosic Biofuels. *Science*, 329(5993), 790-792.

<https://doi.org/10.1126/science.1189268>

- Son, H.-J., Heo, M.-S., Kim, Y.-G., & Lee, S.-J. (2001). Optimization of fermentation conditions for the production of bacterial cellulose by a newly isolated *Acetobacter*. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 33(1), 1-5. <https://doi.org/10.1042/BA20000065>
- Son, H.-J., Kim, H.-G., Kim, K.-K., Kim, H.-S., Kim, Y.-G., & Lee, S.-J. (2003). Increased production of bacterial cellulose by *Acetobacter* sp. V6 in synthetic media under shaking culture conditions. *Bioresource Technology*, 86(3), 215-219. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00176-1](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00176-1)
- Souza, A. V. de, Mello, J. M. de, Favaro, V. F. da S., & Putti, F. F. (2024). Software for classification of banana ripening stage using machine learning. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 46, e. <https://doi.org/10.1590/0100-29452024863>
- Spiertz, J. H. J. (2009). Nitrogen, Sustainable Agriculture and Food Security: A Review. En E. Lichtfouse, M. Navarrete, P. Debaeke, S. Véronique, & C. Alberola (Eds.), *Sustainable Agriculture* (pp. 635-651). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8\\_39](https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_39)
- Stegmann, P., Londo, M., & Junginger, M. (2020). The circular bioeconomy: Its elements and role in European bioeconomy clusters. *Resources, Conservation and Recycling: X*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.rcrx.2019.100029>
- Suhag, M., Kumar, A., & Singh, J. (2020). Saccharification and fermentation of pretreated banana leaf waste for ethanol production. *SN Applied Sciences*, 2(8), 1448. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-03215-x>
- Sultan, B., & Gaetani, M. (2016). Agriculture in West Africa in the Twenty-First Century: Climate Change and Impacts Scenarios, and Potential for Adaptation. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01262>
- Sultan, N. F. K., & Johari, W. L. W. (2017). The development of banana peel/corn starch bioplastic film: A preliminary study. *Bioremediation Science and Technology Research*, 5(1), Article 1. <https://doi.org/10.54987/bstr.v5i1.352>
- Sun, S., Sun, S., Cao, X., & Sun, R. (2016). The role of pretreatment in improving the

- enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. *Bioresource Technology*, 199, 49-58.  
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.061>
- Sundaram, M. K., Nehru, G., Tadi, S. R. R., Katsuno, N., Nishizu, T., & Sivaprakasam, S. (2023). Bacterial cellulose production by *Komagataeibacter hansenii* utilizing agro-industrial residues and its application in coffee milk stabilization. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(9), 7971-7981. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01867-2>
- Svanes, E., & Aronsson, A. K. S. (2013). Carbon footprint of a Cavendish banana supply chain. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 18(8), 1450-1464.  
<https://doi.org/10.1007/s11367-013-0602-4>
- Świątek, K., Gaag, S., Klier, A., Kruse, A., Sauer, J., & Steinbach, D. (2020). Acid hydrolysis of lignocellulosic biomass: Sugars and furfurals formation. *Catalysts*, 10(4).  
<https://doi.org/10.3390/catal10040437>
- Tan, H.-L., Ojukwu, M., Lee, L.-X., & Easa, A. M. (2023). Quality characteristics of green Tea's infusion as influenced by brands and types of brewing water. *Heliyon*, 9(2).  
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12638>
- Tan, J. S., Phapugrangkul, P., Lee, C. K., Lai, Z.-W., Abu Bakar, M. H., & Murugan, P. (2019). Banana frond juice as novel fermentation substrate for bioethanol production by *Saccharomyces cerevisiae*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 101293.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101293>
- Taokaew, S., Seetabhawang, S., Siripong, P., & Phisalaphong, M. (2013). Biosynthesis and Characterization of Nanocellulose-Gelatin Films. *Materials*, 6(3), Article 3.  
<https://doi.org/10.3390/ma6030782>
- Tarrés, Q., Espinosa, E., Domínguez-Robles, J., Rodríguez, A., Mutjé, P., & Delgado-Aguilar, M. (2017). The suitability of banana leaf residue as raw material for the production of high lignin content micro/nano fibers: From residue to value-added products. *Industrial Crops and Products*, 99, 27-33. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.01.021>
- Tefon Öztürk, B. E., Eroğlu, B., Delik, E., Çiçek, M., & Çiçek, E. (2023). Comprehensive Evaluation of Three Important Herbs for Kombucha Fermentation. *Food Technology*

*and Biotechnology*, 61(1), 127-137. <https://doi.org/10.17113/ftb.61.01.23.7789>

Teigiserova, D. A., Hamelin, L., & Thomsen, M. (2019). Review of high-value food waste and food residues biorefineries with focus on unavoidable wastes from processing.

*Resources, Conservation and Recycling*, 149, 413-426.

<https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2019.05.003>

The Insight Partners. (2022). *Mercado de compuestos de fibras naturales: Mapeo competitivo y perspectivas estratégicas para 2028*. The Insight Partners.

<https://www.theinsightpartners.com/es/reports/natural-fiber-composites-market>

Thomas, B. S., Yang, J., Mo, K. H., Abdalla, J. A., Hawileh, R. A., & Ariyachandra, E. (2021).

Biomass ashes from agricultural wastes as supplementary cementitious materials or aggregate replacement in cement/geopolymer concrete: A comprehensive review.

*Journal of Building Engineering*, 40, 102332. <https://doi.org/10.1016/j.jobe.2021.102332>

Thorat, M. N., & Dastager, S. G. (2018). High yield production of cellulose by a:

Komagataeibacter rhaeticus PG2 strain isolated from pomegranate as a new host. En *RSC Advances* (Vol. 8, Número 52, pp. 29797-29805). Royal Society of Chemistry.

<https://doi.org/10.1039/c8ra05295f>

Tiappi Deumaga, M. F., Jacquet, N., Vanderghem, C., Aguedo, M., Thomas, H. G., Gerin, P.,

Deleu, M., & Richel, A. (2020). Fractionation and Structural Characterization of

Hemicellulose from Steam-Exploded Banana Rachis. *Waste and Biomass Valorization*, 11(5), 2183-2192. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0457-9>

Trache, D., Hussin, M. H., Haafiz, M. K. M., & Thakur, V. K. (2017). Recent progress in cellulose nanocrystals: Sources and production. *Nanoscale*, 9(5), 1763-1786.

<https://doi.org/10.1039/C6NR09494E>

Travaini, R., Martín-Juárez, J., Lorenzo-Hernando, A., & Bolado-Rodríguez, S. (2016).

Ozonolysis: An advantageous pretreatment for lignocellulosic biomass revisited.

*Bioresource Technology*, 199, 2-12. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.143>

Tsouko, E., Pilafidis, S., Dimopoulou, M., Kourmentza, K., & Sarris, D. (2023). Bioconversion of underutilized brewing by-products into bacterial cellulose by a newly isolated

*Komagataeibacter rhaeticus* strain: A preliminary evaluation of the bioprocess environmental impact. *Bioresource Technology*, 387, 129667.

<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129667>

Ubando, A. T., Chen, W.-H., Hurt, D. A., Conversion, A., Rajendran, S., & Lin, S.-L. (2022). Biohydrogen in a circular bioeconomy: A critical review. *Bioresource Technology*, 366, 128168. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128168>

UI-Islam, M., Khan, T., & Park, J. K. (2012). Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ and ex situ modification. *Carbohydrate Polymers*, 88(2), 596-603. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.01.006>

UI-Islam, M., Shah, N., Ha, J. H., & Park, J. K. (2011). Effect of chitosan penetration on physico-chemical and mechanical properties of bacterial cellulose. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 28(8), 1736-1743. <https://doi.org/10.1007/s11814-011-0042-4>

UI-Islam, M., Ullah, M. W., Khan, S., & Park, J. K. (2020). Production of bacterial cellulose from alternative cheap and waste resources: A step for cost reduction with positive environmental aspects. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 37(6), 925-937. <https://doi.org/10.1007/s11814-020-0524-3>

Ulusoy, A., & Tamer, C. E. (2019). Determination of suitability of black carrot (*Daucus carota* L. spp. *Sativus* var. *Atrorubens* Alef.) juice concentrate, cherry laurel (*Prunus laurocerasus*), blackthorn (*Prunus spinosa*) and red raspberry (*Rubus ideaus*) for kombucha beverage production. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(2), 1524-1536. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00068-w>

Valenzuela-Cobos Et Al., J. (2024). Assessment of Bacterial Cellulose from *Komagataeibacter medellinensis* Derived from Agricultural Waste and its Influence on *Artemia* Larval Culture. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 28(2), 441-449. <https://doi.org/10.21608/ejabf.2024.348619>

van Zyl, W. H., Chimphango, A. F. A., den Haan, R., Görgens, J. F., & Chirwa, P. W. C. (2011). Next-generation cellulosic ethanol technologies and their contribution to a sustainable Africa. *Interface Focus*, 1(2), 196-211. <https://doi.org/10.1098/rsfs.2010.0017>

- Varma, V., & Bebbler, D. P. (2019). Climate change impacts on banana yields around the world. *Nature Climate Change*, 9(10), 752-757. <https://doi.org/10.1038/s41558-019-0559-9>
- Velásquez-Arredondo, H. I., Ruiz-Colorado, A. A., & De Oliveira, S. (2010). Ethanol production process from banana fruit and its lignocellulosic residues: Energy analysis. *Energy*, 35(7), 3081-3087. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2010.03.052>
- Vidal, P. F., & Molinier, J. (1988). Ozonolysis of lignin—Improvement of in vitro digestibility of poplar sawdust. *Biomass*, 16(1), 1-17. [https://doi.org/10.1016/0144-4565\(88\)90012-1](https://doi.org/10.1016/0144-4565(88)90012-1)
- Von Gunten, U. (2003). Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Research*, 37(7), 1443-1467. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00457-8](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00457-8)
- Walker, G. M., & Stewart, G. G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages. *Beverages*, 2(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/beverages2040030>
- Wang, D., Jenkins, K., Forstenhäusler, N., Lei, T., Price, J., Warren, R., Jenkins, R., & Guan, D. (2021). Economic impacts of climate-induced crop yield changes: Evidence from agri-food industries in six countries. *Climatic Change*, 166(3), 30. <https://doi.org/10.1007/s10584-021-03062-8>
- Waramit, N. (2012). Developing a bioeconomy in Thailand. *Journal of the International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences*, 18(2), 34-44.
- Watkins, D., Nuruddin, M., Hosur, M., Tcherbi-Narteh, A., & Jeelani, S. (2015). Extraction and characterization of lignin from different biomass resources. *Journal of Materials Research and Technology*, 4(1), 26-32. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2014.10.009>
- Williams, C. L., Westover, T. L., Emerson, R. M., Tumuluru, J. S., & Li, C. (2016). Sources of Biomass Feedstock Variability and the Potential Impact on Biofuels Production. *Bioenergy Research*, 9(1), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s12155-015-9694-y>
- Wydra, S. (2019). Value Chains for Industrial Biotechnology in the Bioeconomy-Innovation System Analysis. *Sustainability*, 11(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/su11082435>

- Yang, L., Zhu, X., Chen, Y., & Wang, J. (2024). Enhanced bacterial cellulose production in *Gluconacetobacter xylinus* by overexpression of two genes (*bscC* and *bcsD*) and a modified static culture. *International Journal of Biological Macromolecules*, 260, 129552. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.129552>
- Yassunaka Hata, N. N., Surek, M., Sartori, D., Vassoler Serrato, R., & Aparecida Spinosa, W. (2023). Role of Acetic Acid Bacteria in Food and Beverages. *Food Technology and Biotechnology*, 61(1), 85-103. <https://doi.org/10.17113/ftb.61.01.23.7811>
- Ye, J., Zheng, S., Zhang, Z., Yang, F., Ma, K., Feng, Y., Zheng, J., Mao, D., & Yang, X. (2019). Bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* ATCC 23767 using tobacco waste extract as culture medium. *Bioresource Technology*, 274, 518-524. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.028>
- Yeboah, W. O., Kwofie, E. M., & Wang, D. (2022). Circular bioeconomy potential of rice husk as a bioplastic resource: Techno-environmental assessment. *Bioresource Technology Reports*, 20, 101248. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101248>
- Yim, S. M., Song, J. E., & Kim, H. R. (2017). Production and characterization of bacterial cellulose fabrics by nitrogen sources of tea and carbon sources of sugar. *Process Biochemistry*, 59, 26-36. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.07.001>
- Ymeri, P., Gyuricza, C., & Fogarassy, C. (2020). Farmers' attitudes towards the use of biomass as renewable energy-A case study from Southeastern Europe. *Sustainability (Switzerland)*, 12(10). <https://doi.org/10.3390/SU12104009>
- Yu, Q., Yang, L., Wang, S., Zhang, L., & Sun, D. (2023). Citric acid cross-linked regenerated bacterial cellulose as biodegradable film for food packaging. *Cellulose*, 30(16), 10273-10284. <https://doi.org/10.1007/s10570-023-05500-5>
- Yun, Y.-H., Wee, Y.-J., Byun, H.-S., & Yoon, S.-D. (2008). Biodegradability of Chemically Modified Starch (RS4)/PVA Blend Films: Part 2. *Journal of Polymers and the Environment*, 16(1), 12-18. <https://doi.org/10.1007/s10924-008-0084-9>
- Zailani, N., & Adnan, A. (2022). Substrates and Metabolic Pathways in Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast (SCOBY) Fermentation: A Mini Review. *Jurnal Teknologi*, 84, 165.



<https://doi.org/10.11113/jurnalteknologi.v84.18534>

- Zhang, J., Yang, Y., Deng, J., Wang, Y., Hu, Q., Li, C., & Liu, S. (2017). Dynamic profile of the microbiota during coconut water pre-fermentation for nata de coco production. *LWT - Food Science and Technology*, *81*, 87-93. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.03.036>
- Zhang, T.-F., Yang, J.-F., & Lin, D. K. J. (2011). Small Box–Behnken design. *Statistics & Probability Letters*, *81*(8), 1027-1033. <https://doi.org/10.1016/j.spl.2011.02.024>
- Zhang, Y., Rempel, C., & Liu, Q. (2014). Thermoplastic Starch Processing and Characteristics—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *54*(10), 1353-1370. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.636156>
- Zhu, B., Zhang, Z., Wang, H., & Ma, X. (2021). Isolation and Culture Conditions Optimization of a New Bacterial Cellulose Producing Strain *Komagataeibacter intermedius* 6-5. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *632*(3), 032040. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/632/3/032040>
- Zhu, Y., Romain, C., & Williams, C. K. (2016). Sustainable polymers from renewable resources. *Nature*, *540*(7633), 354-362. <https://doi.org/10.1038/nature21001>
- Zucker, I., Avisar, D., Mamane, H., Jekel, M., & Hübner, U. (2016). Determination of oxidant exposure during ozonation of secondary effluent to predict contaminant removal. *Water Research*, *100*, 508-516. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.049>
- Zuraida, A., Yusliza, Y., Anuar, H., & Mohd Khairul Muhaimin, R. (2012). The effect of water and citric acid on sago starch bio-plastics. *International Food Research Journal*, *19*(2), 715-719.

## **NOTA SOBRE PUBLICACIONES**

El desarrollo de la tesis ha generado las siguientes publicaciones en revistas, en las que se basa la presente Memoria:

1. Fiallos-Cárdenas, M., Pérez-Martínez, S., & Ramirez, A. D. (2022). Prospectives for the development of a circular bioeconomy around the banana value chain. *Sustainable Production and Consumption*, 30, 541-555.
2. Fiallos-Cárdenas, M., Ramirez, A. D., Pérez-Martínez, S., Romero Bonilla, H., 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.

## Apéndice A: Relación de Abundancia Unificada

```
# # Datos de las especies
species <- c("Komagataeibacter xylinus", "Brettanomyces bruxellensis",
            "Brettanomyces anomalus", "Pichia kudriavzevii",
            "Gluconacetobacter sp. SXCC-1", "Komagataeibacter europaeus LMG 18494",
            "Komagataeibacter intermedius AF2", "Komagataeibacter hansenii ATCC 23769",
"Gluconobacter sp. AC10")
abundance <- c(70.86, 25.76, 1.81, 0.94, 0.18, 0.13, 0.12, 0.14, 0.06)

# Crear un data frame
data <- data.frame(species, abundance)

# Ordenar los datos por abundancia descendente
data <- data[order(-data$abundance), ] # Ordenar de mayor a menor abundancia

# Graficar el gráfico de barras
library(ggplot2)
ggplot(data, aes(x = reorder(species, -abundance), y = abundance, fill = species)) +
  geom_bar(stat = "identity") +
  labs(x = NULL, y = "Relación de Abundancia Unificada (%)") +
  theme(axis.text.x = element_blank(), # Eliminar etiquetas del eje x
        axis.ticks.x = element_blank(), # Eliminar marcas del eje x
        legend.position = "right", # Posicionar la leyenda a la derecha
        legend.text = element_text(size = 10, family = "Arial"), # Tamaño y tipo de letra de la
        leyenda
        legend.title = element_text(size = 10, face = "bold", family = "Arial")) + # Título de la
        leyenda
  guides(fill = guide_legend(title = "Especies (%)")) + # Añadir título a la leyenda
  scale_fill_manual(values = c("#4e79a7", "#f28e2b", "#e15759", "#76b7b2", "#59a14f",
                              "#edc948", "#b07aa1", "#ff9da7", "#9c755f", "#bab0ac"),
                  labels = c("Komagataeibacter xylinus (70.86%)",
                              "Brettanomyces bruxellensis (25.76%)",
                              "Brettanomyces anomalus (1.81%)",
                              "Pichia kudriavzevii (0.94%)",
                              "Gluconacetobacter sp. SXCC-1 (0.18%)",
                              "Komagataeibacter europaeus LMG 18494 (0.13%)",
                              "Komagataeibacter intermedius AF2 (0.12%)",
                              "Komagataeibacter hansenii ATCC 23769 (0.14%)",
                              "Gluconobacter sp. AC10 (0.06%)"))
```

## Apéndice B: Cinética de características fisicoquímicas el jugo de raquis de banano

```
# Cargar las librerías necesarias si no las tienes instaladas
if (!requireNamespace("ggplot2", quietly = TRUE)) {
  install.packages("ggplot2")
}
if (!requireNamespace("readxl", quietly = TRUE)) {
  install.packages("readxl")
}
library(ggplot2)
library(readxl)
library(dplyr)
```

```

# Leer los datos desde tu archivo Excel (asegúrate de proporcionar la ruta correcta)
data <- read_excel("E:/Doctorado ESPOL-BIOTECNOLOGIA/Documento - Tesis - MAFC -
ESPOL - Biociencias/Datos raquis de banano - ozonización.xlsx")

# Función para crear los gráficos
crear_grafico <- function(data, tratamiento, variable) {
  data_filtrada <- subset(data, Tratamiento == tratamiento)

  # Asignar forma de punto según tiempo de ozonización
  data_filtrada <- data_filtrada %>%
    mutate(shape = case_when(
      Tiempo == 0 ~ 15, # Cuadrado
      Tiempo == 5 ~ 17, # Triángulo
      Tiempo == 20 ~ 16, # Círculo
      Tiempo == 30 ~ 18 # Rombo
    ))

  # Definir las etiquetas de las unidades
  unidad_etiqueta <- switch(variable,
    "pH" = "",
    "Turbidez" = "(NTU)",
    "Brix" = "(°Brix)",
    "R.NCB" = "(g/l)")

  ggplot(data_filtrada, aes(x = Dias, y = !!sym(variable), group = Tiempo, color =
as.factor(Tiempo), shape = as.factor(shape))) +
  geom_line(size = 1.5) + # Grosor de la línea
  geom_point(size = 3) + # Tamaño de los puntos
  labs(title = paste("Tratamiento", tratamiento),
    x = "Días",
    y = paste(variable, unidad_etiqueta),
    color = "Tiempo de ozonización (min)",
    shape = NULL) + # Eliminar la leyenda de la forma
  scale_shape_manual(values = c(15, 17, 16, 18), guide = FALSE) + # Asignar formas y
eliminar guía de leyenda
  theme_minimal() +
  theme(text = element_text(size = 12)) # Tamaño de fuente para etiquetas y números
}

# Crear y mostrar gráficos para pH, Turbidez, Brix y R.NCB para R-25
grafico_pH_R25 <- crear_grafico(data, "R-25", "pH")
grafico_Turbidez_R25 <- crear_grafico(data, "R-25", "Turbidez")
grafico_Brix_R25 <- crear_grafico(data, "R-25", "Brix")
grafico_RNCB_R25 <- crear_grafico(data, "R-25", "R.NCB")

print(grafico_pH_R25)
print(grafico_Turbidez_R25)
print(grafico_Brix_R25)
print(grafico_RNCB_R25)

# Crear y mostrar gráficos para pH, Turbidez, Brix y R.NCB para R-50
grafico_pH_R50 <- crear_grafico(data, "R-50", "pH")
grafico_Turbidez_R50 <- crear_grafico(data, "R-50", "Turbidez")
grafico_Brix_R50 <- crear_grafico(data, "R-50", "Brix")
grafico_RNCB_R50 <- crear_grafico(data, "R-50", "R.NCB")

```

```
print(grafico_pH_R50)
print(grafico_Turbidez_R50)
print(grafico_Brix_R50)
print(grafico_RNCB_R50)
```

```
# Crear y mostrar gráficos para pH, Turbidez, Brix y R.NCB para R-75
grafico_pH_R75 <- crear_grafico(data, "R-75", "pH")
grafico_Turbidez_R75 <- crear_grafico(data, "R-75", "Turbidez")
grafico_Brix_R75 <- crear_grafico(data, "R-75", "Brix")
grafico_RNCB_R75 <- crear_grafico(data, "R-75", "R.NCB")
```

```
print(grafico_pH_R75)
print(grafico_Turbidez_R75)
print(grafico_Brix_R75)
print(grafico_RNCB_R75)
```

### **Apéndice C: Código Rstudio para determinar correlación entre las variables analizadas en el jugo de raquis de banano ozonizado**

```
# Función ipak para instalar y cargar varios paquetes a la vez
ipak <- function(pkg){
  new.pkg <- pkg[!(pkg %in% installed.packages()), "Package"]]
  if (length(new.pkg))
    install.packages(new.pkg, dependencies = TRUE)
  sapply(pkg, require, character.only = TRUE)
}
```

```
# Crear la lista de los paquetes a utilizar
packages <- c("foreign", "apaTables", "PerformanceAnalytics", "psych", "corr", "readxl",
"corrplot")
# Instalar y cargar los paquetes del listado anterior
ipak(packages)
```

```
# Cargar el data frame que vamos a utilizar
df <- read_excel("E:/Doctorado ESPOL-BIOTECNOLOGIA/Documento - Tesis - MAFC -
ESPOL - Biociencias/Análisis multivariado-Datos raquis de banano - ozonización.xlsx")
View(df)
```

```
# Crear matriz de correlaciones con uso de observaciones completas
cor(df, use = "complete.obs")
```

```
# Crear matriz de correlaciones sin NA
df2 <- df[complete.cases(df), ]
```

```
# Volver a crear la matriz de correlaciones
correlac <- cor(df2)
```

```
# Crear directamente la tabla de correlaciones en APA en formato Word
apa.cor.table(df2, filename = "correlación.doc", table.number = 1, show.conf.interval = FALSE,
landscape = TRUE)
```

```
##### Figura para publicación #####
chart.Correlation(df2, histogram = TRUE, method = "pearson")
```

```
### Gráfica de correlación de círculos con agrupación de variables #####
```

```

corrplot(cor(df2),
  method = "circle",
  order = "hclust",      # Método de ordenación de la matriz
  hclust.method = "ward.D", # Si order = "hclust", es el método de agrupación usado
  addrect = 2,          # Si order = "hclust", es el número de clusters
  rect.col = "red",     # Color de los rectángulos
  rect.lwd = 3)

```

## Apéndice D: Código en Rstudio para optimización de medio de fermentación mediante el diseño Box – Behnken

Esta sección presenta el código implementado en RStudio, utilizado para el diseño Box-Behnken en la optimización de la producción de NCB. El estudio se centra en la combinación de tres componentes: jugo de hoja de banano (JHB), jugo de raquis de banano (JRB) e inóculo de vinagre (IV). La formulación se completa con infusión de té verde y se evalúa el rendimiento en  $\text{gL}^{-1}$  de nanocelulosa bacteriana seca.

```

# Instalar paquetes necesarios si aún no están instalados
install.packages("rsm")
install.packages("ggplot2")
install.packages("dplyr")
install.packages("tibble")

# Cargar paquetes
library(rsm)
library(ggplot2)
library(dplyr)
library(tibble)

# Definir los datos
data <- data.frame(
  X1.JHB = c(30, 40, 50, 30, 50, 30, 40, 50, 30, 50, 30, 50, 30, 40, 50, 30, 50, 30, 40,
  50),
  X2.JRB = c(0, 0, 0, 5, 5, 10, 10, 10, 0, 0, 10, 10, 0, 0, 0, 5, 5, 10, 10, 10),
  X3.t = c(7, 7, 7, 7, 7, 7, 7, 7, 14, 14, 14, 14, 21, 21, 21, 21, 21, 21, 21, 21),
  Rendimiento = c(10.5, 11.5, 10.4, 0.0, 0.1, 0.0, 0.0, 0.1, 11.9, 11.6, 0.2, 0.5, 12.3,
  12.8, 12.0, 1.3, 1.4, 0.1, 0.2, 0.1)
)

# Ajustar el modelo de respuesta
modelo <- rsm(Rendimiento ~ FO(X1.JHB, X2.JRB, X3.t) + TWI(X1.JHB, X2.JRB, X3.t)
+ PQ(X1.JHB, X2.JRB, X3.t), data = data)

# Resumen del modelo
summary(modelo)

# Gráfico de superficie de respuesta para X1.JHB y X2.JRB con X3.t en su valor

```

```

central (0)
par(mfrow=c(1,2))
persp(modelo, ~ X1.JHB + X2.JRB, zlab = "Rendimiento", main = "Superficie de
respuesta (X3.t = 0)")

# Gráfico de superficie de respuesta para X1.JHB y X3.t con X2.JRB en su valor
central (0)
persp(modelo, ~ X1.JHB + X3.t, zlab = "Rendimiento", main = "Superficie de respuesta
(X2.JRB = 0)")

# Gráfico de superficie de respuesta para X2.JRB y X3.t con X1.JHB en su valor
central (0)
persp(modelo, ~ X2.JRB + X3.t, zlab = "Rendimiento", main = "Superficie de respuesta
(X1.JHB = 0)")

# Crear dataframe con efectos principales
effects <- as.data.frame(coef(modelo))

# Verificar la estructura del dataframe de efectos
str(effects)
print(effects)

# Renombrar las columnas para ggplot
effects <- effects %>%
  rownames_to_column("Term") %>%
  rename(Effect = `coef(modelo)`)

# Filtrar el término de intercepto
effects <- effects %>%
  filter(Term != "(Intercept)")

# Gráfico de efectos principales con etiquetas rotadas y tamaño de letra ajustado
ggplot(effects, aes(x = Term, y = Effect)) +
  geom_bar(stat = "identity", fill = "steelblue") +
  theme_minimal() +
  labs(title = "Efectos principales de los términos del modelo",
       x = "Término",
       y = "Efecto") +
  theme(axis.text.x = element_text(angle = 90, vjust = 0.5, hjust=1, size = 5)) # Ajuste
de tamaño de letra en el eje x

```

## **Apéndice E: Código en RStudio para el diseño simplex-centroide en la producción de biopolímeros basados en almidón de cáscara de banano (ACB), nanocelulosa bacteriana (NCB) y glicerina.**

Esta sección presenta el código implementado en RStudio, utilizado para el diseño simplex-centroide en la formulación de biopolímeros. El estudio se centra en la combinación de almidón de cáscara de banano (ACB), nanocelulosa bacteriana (NCB) y glicerina, con el

objetivo de optimizar las propiedades del material resultante.

## # Instalación de los paquetes

```
install.packages("daewr")
install.packages("readxl")
install.packages("mixexp")
install.packages("lattice")
library(readxl)
library(daewr)
library(mixexp)
```

## # Diseño experimental

```
dat<-SCD(3)
DesignPoints(des=dat)
x1<-c(1, 0, 0, 0.5, 0.5, 0, 0.333, 0.333, 0.333)
x2<-c(0, 1, 0, 0.5, 0, 0.5, 0.333, 0.33, 0.33)
x3<-c(0, 0, 1, 0, 0.5, 0.5, 0.333, 0.33, 0.33)
y<-c(11, 15, 10, 16.4, 17, 13, 18.4, 19, 18)
DesignPoints(x=x3,y=x2,z=x1)
dat<-data.frame(x1,x2,x3)
DesignPoints(des=dat,axislabs=c("NCB ","ACB","Glicerina"))

modelo1<- lm(y ~ x1 + x2 + x3 + x1:x2 + x1:x3 + x2:x3 + x1:x2:x3+ -1,data= dat)
summary(modelo1)

modelo2 <- lm(y ~ x1 + x2 + x3 + I(x1*x2) + I(x1*x3) + I(x2*x3) + I(x1*x2*x3), data = datos)
summary(modelo2)

modelo3<- lm(y ~ x1 + x2 + x3 + x1:x2 + x1:x3 + x2:x3 + -1,data= dat)
summary(modelo3)

MixturePlot(x=c(1, 0, 0, 0.5, 0.5, 0, 0.333, 0.333, 0.333),
```



```

y=c(0, 1, 0, 0.5, 0, 0.5, 0.333, 0.33, 0.33),
z=c(0, 0, 1, 0, 0.5, 0.5, 0.333, 0.33, 0.33),
w=c(11, 15, 10, 16.4, 17, 13, 18.4, 19, 18), res=400,
lims=c(rep(0,6)),color.palette = heat.colors,
constrts=FALSE,contrs=TRUE,n.breaks=10,levels=NULL,
cols=TRUE, despts=TRUE, mod = 2, x3lab="Glicerina",
x2lab="ACB", x1lab="NCB",
corner.labs = NULL,
colorkey=list(dx=0.04,x0=0.95,y0=0.45,y1=0.90,add=TRUE,mode="all"),
pseudo=FALSE)
des<-data.frame(x1,x2,x3,y)
EffPlot(des,2,2)
des<-data.frame(x1,x2,x3,y)
EffPlot(des,mod = 2,dir = 1)

```

### **# Predicciones y diagnóstico**

```

predicciones <- predict(modelo1)
residuos <- residuals(modelo1)

```

### **# Visualizar las predicciones vs valores observados**

```

plot(datos$y, predicciones, xlab = "Valores Observados", ylab = "Valores Predichos",
     main = "Predicciones vs Valores Observados")
abline(0, 1, col = "red")

```

### **# Ajustar los márgenes del gráfico**

```

par(mfrow = c(2, 2), mar = c(4, 4, 2, 1))
plot(modelo1)
par(mfrow = c(1, 1))

```

### **# Ver los coeficientes del modelo**

```

coef(modelo1)

```

## # Crear una función de predicción para nuevas combinaciones

```
predecir_modulo <- function(x1, x2, x3) {  
  predict(modelo1, newdata = data.frame(x1 = x1, x2 = x2, x3 = x3))  
}
```

## # Ejemplo de predicción

```
nueva_combinacion <- data.frame(x1 = 0.4, x2 = 0.3, x3 = 0.3)  
prediccion_nueva <- predecir_modulo(0.4, 0.3, 0.3)  
print(paste("Predicción para la nueva combinación (0.4, 0.3, 0.3):", prediccion_nueva))
```

## APÉNDICE F: Tabla suplementaria para análisis de ciclo de vida en la producción de bioplástico a partir de NCB-PEBD-ACB.

**Tabla S 1.** Datos relativos a los flujos de entrada y salida para la producción de 1 kg de jugo de hoja de banano.

Entrada			Salidas		
Tipo	Cantidad	Unidad	Tipo	Cantidad	Unidad
Electricidad	0,05300	kWh	Tratamiento de agua	0,00351	m <sup>3</sup>
Hoja de banano	11,57300	kg	Bagazo de hoja de banano	10,57300	kg
Agua potable	3,51100	Kg			

**Tabla S 2.** Datos relativos a los flujos de entrada y salida para la producción de 1 kg de medio de fermentación.

Entrada			Salidas		
Tipo	Cantidad	Unidad	Tipo	Cantidad	Unidad
Electricidad	0,02300	kWh	Bagazo <i>Camellia sinensis</i>	0,00538	kg
<i>Camellia sinensis</i>	0,00406	kg			
Agua ablandada	0,59916	kg			
Jugo de hoja de banano	0,40216	kg			

**Tabla S 3.** Datos relativos a los flujos de entrada y salida para la producción de 1 kg de nanocelulosa bacterial impura.

Entrada			Salidas		
Tipo	Cantidad	Unidad	Tipo	Cantidad	Unidad
<i>K. xylinus</i>	0,00011	kg	Dióxido de carbono	0,46987	kg
Medio de fermentación	3,44028	kg	Bebida fermentada análogo al té de kombucha	1,97052	kg

**Tabla S 4.** Datos relativos a los flujos de entrada y salida para la producción de 1 kg de bebida fermentada análogo al té de kombucha en botella.

Entrada			Salidas		
Tipo	Cantidad	Unidad	Tipo	Cantidad	Unidad
Bebida fermentada análogo al té de kombucha	0,62319	kg			
Empaque botella de vidrio	0,37681	kg			

**Tabla S 5.** Datos relativos a los flujos de entrada y salida para la producción de 1 kg de nanocelulosa bacterial pura.

Entrada			Salidas		
Tipo	Cantidad	Unidad	Tipo	Cantidad	Unidad
Nanocelulosa bacterial impura	1,64700	kg	Tratamiento de agua residual	0,00346	m <sup>3</sup>
Electricidad	0,10800	kWh	Agua -emisión aire	0,00152	m <sup>3</sup>
Hidróxido de sodio	0,01648	kg			
Agua potable	4,97750	kg			

**Tabla S 6.** Datos relativos a los flujos de entrada y salida para la producción de 1 kg de almidón de cáscara de banano.

Entrada			Salidas		
Tipo	Cantidad	Unidad	Tipo	Cantidad	Unidad
Electricidad	2,77500	kWh	Tratamiento de agua	0,00080	m <sup>3</sup>
NaOH	0,01200	kg	Agua (emisión aire)	0,00120	m <sup>3</sup>
Etanol	0,01666	kg			
Agua potable	2,00000	kg			
Calor	3,98700	MJ			

**Tabla S 7.** Datos relativos a los flujos de entrada y salida para la producción de 1 kg de fibra vegetal peletizado.

Entrada			Salidas		
Tipo	Cantidad	Unidad	Tipo	Cantidad	Unidad
Electricidad	0,01450	kWh	Tratamiento de agua	0,00041	m <sup>3</sup>
Bagazo de té verde	2,229E-7	kg	Agua (emisión aire)	2,072E-6	m <sup>3</sup>
Bagazo de hoja de banano	0,00044	Kg			
Empaque plástico	0,00943	kg			
Hidróxido de sodio	0,00041	Kg			
Agua potable	0,41000	Kg			