

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA**
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y METALURGIA
**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL**



TESIS:

**Formulación de un sustrato para la producción de kombucha
(*Manchurian fungus*) a partir de residuos agroindustriales
provenientes del VRAEM**

Para optar el título profesional de:
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

PRESENTADO POR:
Bach. Roberth Jhonatan TORRES BAUTISTA

ASESOR:
Msc. Percy Fermín VELÁSQUEZ CCOSI

COASESORA:
Msc. Leidy Diana MEDINA QUIQUIN

AYACUCHO - PERÚ
2024

DEDICATORIA

En primer lugar, doy gracias a Dios por escoltar mi vida y guiarme por el buen camino.

A mis queridos padres Delia Bautista Tello y Roberto Torres Cruz por sus consejos, paciencia, comprensión y apoyo incondicional con los recursos necesarios para terminar dichosamente mi carrera profesional.

A mi hermano Renil Nilo Torres Bautista por su apoyo y consejo que me impulsaron hacia adelante para cumplir mis objetivos y a mi abuelito Máximo Bautista Lunasco por sus consejos y valores.

AGRADECIMIENTO

A mi alma Mater “Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga”, por haberme formado en sus campus universitarios con una educación de calidad y gratuita, hasta lograr mi objetivo de ser profesional con ética y valores para contribuir en el desarrollo de la sociedad.

A mis docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial y de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia, gracias a todos por el conocimiento compartido durante mi formación profesional, quienes fueron partícipes ya sea de manera directa o indirecta, que hoy en día se refleja en mi labor profesional.

Doy mis sinceros agradecimientos a mi asesor Msc. Percy Fermín Velásquez Ccosi, por el gran apoyo y vocación durante el desarrollo de este trabajo de investigación.

Al Msc. Leidy Diana Medina Quiquin, por su apoyo y guía en el desarrollo de la tesis.

Al Ing. Jaime Navarro Jeri, por sus consejos y recomendaciones; como no decir las gracias por sus sabias palabras y orientaciones al negocio empresarial y a la política.

A mi familia, por gran apoyo brindado durante el proceso de este trabajo de investigación.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación abordó el tema de evaluación de medios de cultivo a partir de residuos agroindustriales para la producción de celulosa bacteriana (*Manchurian fungus*). Los residuos con alto contenido de azúcares y nutrientes surge como solución prometedora para remplazar a los sustratos sintéticos de alto costo. El objetivo del estudio fue formular un sustrato para la producción de kombucha (*Manchurian fungus*) a partir de residuos agroindustriales provenientes del VRAEM y evaluar el efecto de las proporciones de los residuos en el rendimiento de celulosa bacteriana mediante Diseño de Mezclas Simplex Centroides. Se formularon 15 tratamientos con cuatro fuentes de carbono: mucílago de cacao (MC), suero de leche (SL), cascara de café (CF) y descartes de piña en concentrado (DPC), que representaron el 30% de la mezcla total. Los componentes constantes fueron 65 % de agua y 5 % de te negro. Los resultados demostraron que la combinación del tratamiento T9, compuesto por 105 g de CF y 105 g de SL, resultó ser el más eficiente, generando un rendimiento de 71 g de celulosa bacteriana por gramo de sustrato. El segundo mejor rendimiento se logró con el tratamiento T10, que consistió en 105 g de DPC y 105 g de CF, produciendo 61 g de celulosa bacteriana por gramo de sustrato, durante 28 días a 25 a 28 °C, pH = 3,62 – 4,53 y °Brix = 11 - 21. Además, proporciones binarias resultaron en el mayor rendimiento, con una producción promedio de 43 g biomasa/g de sustrato. Las proporciones puras mostraron un rendimiento ligeramente inferior, con 38 g de biomasa/g de sustrato. Por otro lado, tanto las proporciones ternarias como las cuaternarias presentaron rendimientos idénticos de 37 g de /g de sustrato. Mediante la aplicación del Diseño de Mezclas Simplex-Centroides en conjunto con la Función de Deseabilidad (FD) demostró ser una metodología altamente eficaz para la optimización de proporciones cuaternarias en la producción de celulosa bacteriana, esta estrategia permitió maximizar el rendimiento, alcanzando una producción de 40,02 g de biomasa por gramo de sustrato; los resultados óptimos se obtuvieron utilizando una composición equilibrada de cuatro sustratos: MC, SL, DPC y CF, cada uno en una proporción del 52,5%.

Palabras claves: kombucha (*Manchurian fungus*), celulosa bacteriana (CB), Medios de cultivo/ sustratos, rendimiento, proporciones, Función de deseabilidad (FD), mucílago de cacao, suero de leche, descartes de piña en concentrado, cascara seco de café.

ABSTRACT

The present research work addresses the topic of evaluation of culture media from agroindustrial waste for the production of bacterial cellulose (Manchurian fungus). Waste with a high content of sugars and nutrients emerges as a promising solution to replace high-cost synthetic substrates. The objective of the study was to formulate a substrate for the production of kombucha (Manchurian fungus) from agroindustrial waste from the VRAEM and evaluate the effect of the proportions of the waste on the yield of bacterial cellulose using Simplex Centroid Mixture Design. 15 treatments were formulated with four carbon sources: cocoa mucilage (MC), whey (SL), coffee husk (CF) and pineapple discards in concentrate (DPC), which represented 30% of the total mixture. The constant components were 65% water and 5% black tea. The results showed that the combination of treatment T9, composed of 105 g of CF and 105 g of SL, turned out to be the most efficient, generating a yield of 71 g of bacterial cellulose per gram of substrate. The second best performance was achieved with the T10 treatment, which consisted of 105 g of DPC and 105 g of CF, producing 61 g of bacterial cellulose per gram of substrate, for 28 days at 25 to 28 °C, pH = 3.62 – 4.53 and °Brix = 11 - 21. Furthermore, binary proportions resulted in the highest yield, with an average production of 43 g biomass/g of substrate. The pure proportions showed a slightly lower yield, with 38 g of biomass/g of substrate. On the other hand, both the ternary and quaternary proportions presented identical yields of 37 g of /g of substrate. Through the application of Simplex-Centroid Mixture Design in conjunction with the Desirability Function (DF), it proved to be a highly effective methodology for the optimization of quaternary proportions in the production of bacterial cellulose. This strategy allowed maximizing performance, achieving a production of 40.02 g of biomass per gram of substrate; The optimal results were obtained using a balanced composition of four substrates: MC, SL, DPC and CF, each in a proportion of 52.5%.

Keywords: kombucha (Manchurian fungus), bacterial cellulose (CB), Culture media/substrates, yield, proportions, Desirability function (FD), cocoa mucilage, whey, pineapple discards in concentrate, dry coffee husk .

ÍNDICE GENERAL

	pp.
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
INTRODUCCIÓN	1
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.2. FORMULACIÓN DE PROBLEMA	3
1.2.1. Problema principal	3
1.2.2. Problemas secundarios.....	3
1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	4
1.3.1. Objetivo general.....	4
1.3.2. Objetivos específicos	4
1.4. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	4
1.4.1. Hipótesis General.....	4
1.4.2. Hipótesis Específico.....	4
1.5. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA	5
II. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN	6
2.1.1. Internacional	6
2.1.2. Nacional	8
2.1.3. Local	8
2.2. BASES TEÓRICAS.....	10
2.2.1. Kombucha.....	10
2.2.2. Celulosa bacteriana (CB)	10
2.2.3. Métodos de cultivo de la celulosa bacteriana	16
2.2.4. Medio de cultivo/ sustrato.....	17
2.2.5. Residuos agroindustriales	20
2.2.6. Cacao	20
2.2.7. Mucílago de cacao	21
2.2.8. Café	23
2.2.9. Suero de leche o lactosuero.....	25
2.2.10. Piña.....	26

2.2.11.	Diseño de experimentos con mezclas	26
2.2.12.	Aplicaciones de la celulosa bacteriana.....	30
2.3.	MARCO CONCEPTUAL	31
III.	MÉTODOS Y MATERIALES.....	33
3.1.	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN	33
3.1.1.	Tipo de investigación	33
3.1.2.	Nivel de investigación	33
3.2.	DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	33
3.3.	POBLACIÓN Y MUESTRA	35
3.4.	VARIABLES E INDICADORES	35
3.5.	TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	37
3.5.1.	Procedimientos de recolección de datos	38
3.6.	TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS.....	52
3.6.1.	Técnicas de procesamiento	52
3.6.2.	Análisis de datos.....	52
3.7.	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	53
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	55
4.1.	RENDIMIENTO DE LA CELULOSA BACTERIANA	55
	CONCLUSIONES	60
	RECOMENDACIONES	61
	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	62
	ANEXOS	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 <i>Taxonomía de k. xylinus</i>	11
Tabla 2 <i>Propiedades mecánicas de la Celulosa Bacteriana y otros materiales</i>	16
Tabla 3 <i>Fuentes de carbono, rendimiento y método de la producción de Calurosa Bacteriana</i>	19
Tabla 4 <i>Composición general del mucílago de cacao</i>	22
Tabla 5 <i>Parámetros fisicoquímicos del mucílago de cacao CCN-51 y Nacional</i>	22
Tabla 6 <i>Variables fisicoquímicas de la miel obtenida a partir del mucílago de cacao</i> ..	23
Tabla 7 <i>Nutrientes extraídos por 1 00 kg de café almendra</i>	24
Tabla 8 <i>Composición fisicoquímica de la cascara de café</i>	24
Tabla 9 <i>Composición fisicoquímica de suero dulce y ácido</i>	25
Tabla 10 <i>Características fisicoquímicas de 100 g de pulpa de piña</i>	26
Tabla 11 <i>Simplex con centroide de 3 componentes con su valor codificada en forma matriz</i>	28
Tabla 12 <i>Aplicaciones industriales de celulosa bacteriana</i>	31
Tabla 13 <i>Valores reales para la evaluación del rendimiento de celulosa bacteriana.</i> ..	34
Tabla 14 <i>Arreglo de la formulación con diferentes fuentes de carbono.</i>	35
Tabla 15 <i>Operacionalización de variables</i>	36
Tabla 16 <i>técnicas e instrumentos de recolección de datos</i>	37
Tabla 17 <i>Procedimientos de recolección de datos</i>	37
Tabla 18 <i>Valores reales de los componentes para la evaluación de rendimiento de biomasa según el diseño de mezclas Simplex - Centroide</i>	48
Tabla 19 <i>Rendimiento de celulosa bacteriana bajo distintos tratamientos</i>	57
Tabla 20 <i>Arreglos de la formulación con diferentes fuentes de carbono</i>	67
Tabla 21 <i>Datos experimentales obtenidos de cada tratamiento durante los 28 días</i> ...	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 <i>Observación macroscópica y microscópica de película de celulosa bacteriana</i>	11
Figura 2 <i>Representación del metabolismo de un microorganismo quimio heterótrofo</i>	12
Figura 3 <i>Biosíntesis y ruta metabólica de fuentes de carbono para la formación de CB</i>	14
Figura 4 <i>Producción de celulosa bacteriana en cultivo estático</i>	17
Figura 5 <i>Cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)</i>	21
Figura 6 <i>Representación geométrica de un diseño de experimentos con mezclas</i>	27
Figura 7 <i>Región experimental de un diseño de mezclas con $q = 4$ componentes</i>	28
Figura 8 <i>Diseño simplex con centroide con tres componentes</i>	29
Figura 9 <i>Diseño preliminar en 3D y 2D de la cámara de incubación</i>	39
Figura 10 <i>Construcción de cámara de incubación</i>	40
Figura 11 <i>Acabado de construcción de cámara de incubación</i>	40
Figura 12 <i>Inoculación de scobys en solución azucarada y acondicionamiento en cámara de incubación</i>	41
Figura 13 <i>Producción de scobys a los 14 días</i>	42
Figura 14 <i>Diagrama de flujo de operación para la obtención de concentrado de mucilago de cacao con apariencia a miel</i>	44
Figura 15 <i>Diagrama de flujo de operación para la obtención de concentrado de piña</i>	46
Figura 16 <i>Diagrama de flujo de operación para la obtención de cascara molida de café</i>	47
Figura 17 <i>Diagrama de flujo del proceso de obtención de Manchurian fungus</i>	50
Figura 18 <i>Efecto estandarizado de los factores en estudio</i>	58
Figura 19 <i>Optimización del rendimiento de celulosa bacteriana</i>	59
Figura 20 <i>Producción de Manchurian fungus en proporciones puras</i>	72
Figura 21 <i>Producción de Manchurian fungus en proporciones binarias</i>	73
Figura 22 <i>Producción de Manchurian fungus en proporciones ternarias</i>	74
Figura 23 <i>Producción de Manchurian fungus en proporciones cuaternaria</i>	74
Figura 24 <i>Producción de CB en proporciones puras a los 28 días</i>	75
Figura 25 <i>Producción de CB en proporciones binarias a los 28 días</i>	76
Figura 26 <i>Producción de CB en proporciones ternarias a los 28 días</i>	77
Figura 27 <i>Producción de CB en proporciones cuaternarias a los 28 días</i>	77

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Arreglos de la formulación con valores reales	67
Anexo 2 Resultados experimentales.....	68
Anexo 3 Proceso de obtención de mucilago con apariencia a miel.....	69
Anexo 4 Proceso de obtención de concentrado de piña con apariencia a miel	70
Anexo 5 Preparación de medios de cultivo para cada tratamiento e inoculación de scobys.....	71
Anexo 6 Producción de celulosa bacteriana a los 7 días en los diferentes medios de cultivo.....	72
Anexo 7 Producción de celulosa bacteriana a los 28 días en los diferentes medios de cultivo.....	75
Anexo 8 Obtención de datos experimentales.....	78
Anexo 9 Resultado final de la producción de celulosa bacteriana en medio de cultivo favorable	79

INTRODUCCIÓN

En los últimos años a nivel nacional y local específicamente en las zonas del VRAEM ha incrementado la producción agrícola y pecuaria, la cual conlleva a la industrialización masiva de los principales cultivos de cacao, café y piña; ya que el desarrollo de la industria y la mayor producción de los cultivos agrarios generan a gran escala residuos con alto contenido de carbono y nutrientes, generando contaminación de impacto directo al medio ambiente, sino son tratados. Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA, 2021) y Comisión Nacional para el Desarrollo y Vida sin Drogas (DEVIDA, 2022)

Por esta razón en presente trabajo de investigación se pretende utilizar los residuos agroindustriales como nutrientes para la producción de *Manchurian fungus* conocido como celulosa bacteriana.

En la actualidad, existen esfuerzo en el estudio y producción de celulosa bacteriana principalmente sintetizadas por las bacterias *Komagataeibacter*; por su gran importancia y su aplicación en los diferentes campos como en la industria textil, biomedicinas, bioplásticas, biocueros y ente otros; ya que la celulosa bacteriana es un biopolímero de alta pureza, no toxico, con alta resistencia mecánica, elástica, degradación superior a la celulosa vegetal y no posee en su estructura celular la hemicelulosa y lignina. Sin embargo, el principal problema hasta hoy en día es el mayor costo del medio de cultivo para la producción de celulosa bacteriana a gran escala con mejores rendimientos para su uso. (Palacios D., 2019) y (Sanabria, Durán, Cabezas, & Hernández, 2021)

En este contexto en el presenta trabajo de investigación se plantea formular un sustrato para la producción de kombucha (*Manchurian fungus*) o llamado celulosa bacteriana a partir de residuos agroindustriales provenientes del VRAEM, tales como el mucilago de cacao, cascara de café, suero de leche y descarte de piña, así para poder disminuir el alto costo de la producción. Además, este trabajo de investigación quedara plasmada como base científica para futuras investigaciones.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA

En la actualidad, existen esfuerzo en el estudio y producción de celulosa bacteriana principalmente sintetizadas por las bacterias *Komagataeibacter*; por su gran importancia y su aplicación en los diferentes campos como en la industria textil, biomedicinas, bioplásticas, biocueros y ente otros; ya que la celulosa bacteriana es un biopolímero de alta pureza no toxico, con alta resistencia mecánica, elástica, degradación superior a la celulosa vegetal y no posee en su estructura celular la hemicelulosa y lignina. Sin embargo el principal problema hasta hoy en día es el mayor costo económico del medio de cultivo para de producción de celulosa bacteriana a gran escala con mejores rendimientos (Palacios D., 2019).

El desarrollo de la industria del chocolate, café, productos lácteos y derivados de piña ha incrementado la generación de los residuos que tienen un impacto directo al medio ambiente si no son tratados. En el presente trabajo de investigación se pretende utilizar como nutrientes a partir de los residuos agroindustriales para la producción *Manchurian fungus*, según (Carreño Pineda et al., 2012) los nutrientes son fundamentales para la nutrición, metabolismo y crecimiento del *Manchurian fungus*.

La Junta Nacional del Café (JNC, 2020), reporta que en el Perú se cosecha 752 a 2 500 kilos de café por hectárea, de los cuales casi el 44 % del peso fresco del fruto representa las cáscaras, así mismo el Instituto Nacional de Innovación Agraria(INIA, 2021), menciona que en año 2020, el Perú llegó a producir 153 mil toneladas de cacao. Siendo los principales departamentos que producen cacao es Huánuco, Ayacucho, Amazonas, Cusco, Junín, San Martín y Ucayali.

En el VRAEM (Valle de los Ríos Apurímac, Ene y Mantaro), según Comisión Nacional para el Desarrollo y Vida sin Drogas (DEVIDA, 2022), en el año 2022 la cosecha selectiva de cacao es de 1 054 toneladas de 1 308 productores cacaoteros y hasta la fecha la producción de café en el VRAEM es de 29 400 kg de las 73,5 hectáreas, siendo la producción de café está en los distritos de Sivia, Llochegua, Pichari, Kimbiri, Santa Rosa, Ayna y Anco. Según (ANDINA-MINAGRI, 2021), la producción de leche en el región Ayacucho alcanzó a 56 910 toneladas con un rendimiento de 1 842 litros por vaca al año; de las cuales se obtiene diferentes derivados lácteos y como subproducto el suero de leche.

En este contexto en el presente trabajo de investigación se plantea evaluar diferentes medios de cultivo a partir de residuos agroindustriales, tales como el mucílago de cacao, cascara de café, suero de leche y descarte de piña, para la producción de celulosa bacteriana (CB), así para poder disminuir el alto costo de la producción.

1.2. FORMULACIÓN DE PROBLEMA

1.2.1. Problema principal

¿Cuál será el sustrato para la producción de kombucha (*Manchurian fungus*) a partir de residuos agroindustriales provenientes del VRAEM?

1.2.2. Problemas secundarios

- ¿Cuál son las proporciones de mucílago de cacao, cáscara de café, suero de leche y descartes de piña componentes del sustrato, para la producción de kombucha (*Manchurian fungus*)?
- ¿Qué resultado se obtendrá de proporciones puras, binarias, ternarias y cuaternarias de los componentes en la producción de kombucha (*Manchurian fungus*) evaluadas con un Diseño de Mezclas Simplex Centroides?
- ¿Se podrá optimizar las proporciones que maximizan el rendimiento en la producción de kombucha (*Manchurian fungus*) a través de un Diseño Simplex Centroides?

1.3. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1. Objetivo general

Formular un sustrato para la producción de kombucha (*Manchurian fungus*) a partir de residuos agroindustriales provenientes del VRAEM.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar las proporciones de mucílago de cacao, cáscara de café, suero de leche y descartes de piña conformantes del sustrato, para la producción de kombucha (*Manchurian fungus*).
- Evaluar el efecto de las proporciones puras, binarias, ternarias y cuaternarias de los componentes en la producción de kombucha (*Manchurian fungus*) con un Diseño de Mezclas Simplex Centroide.
- Optimizar las proporciones que maximizan el rendimiento en la producción de kombucha (*Manchurian fungus*) a través de un Diseño de Mezclas Simplex Centroide.

1.4. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1. Hipótesis General

Los diferentes sustratos a partir de residuos agroindustriales provenientes del VRAEM afectan directamente la producción de kombucha (*Manchurian fungus*).

1.4.2. Hipótesis Específico

- Las proporciones de mucílago de cacao, cáscara de café, suero de leche y descartes de piña conformantes del sustrato, influyen significativamente en la producción de kombucha (*Manchurian fungus*).
- Las proporciones puras, binarias, ternarias y cuaternarias de los componentes evaluados mediante un Diseño de Mezclas Simplex Centroide, afectan directamente en la producción de kombucha (*Manchurian fungus*).
- La proporción de residuos agroindustriales optimiza directamente el rendimiento en la producción de kombucha (*Manchurian fungus*).

1.5. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

Según el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA, 2021) y Comisión Nacional para el Desarrollo y Vida sin Drogas (DEVIDA, 2022), nos menciona en la zona del VRAEM y en los diferentes lugares de la selva peruana ha incrementado la producción agrícola y pecuaria, la cual conllevó a la industrialización masiva de los principales cultivos de cacao, café y piña; ya que el desarrollo de la industria y la mayor producción de los cultivos agrarios ha generado en gran escala residuos con alto contenido de carbono y nutrientes lo que ocasiona contaminación de impacto directo al medio ambiente, sino son tratados.

Por esta razón en el presente trabajo de investigación se plantea formular un sustrato para la producción de kombucha (*Manchurian fungus*) o llamado celulosa bacteriana a partir de residuos agroindustriales provenientes del VRAEM, tales como el mucílago de cacao, cascara de café, suero de leche y descarte de piña; ya que los residuos mencionados cuentan con alto contenido de azúcares, proteínas, nutrientes y otros mineral que pueden ser posibles medios de cultivo para producir CB y a la vez un sustituto al medio cultivo sintético; así para poder reducir el alto costo de los medios de cultivo. (Olga L. et al., 2021)

Además, la celulosa bacteriana es de gran importancia su uso en el campo de industria textil, biomedicinas, bioplásticas, biocueros y ente otros, por sus propiedades de alta pureza, no toxico, con alta resistencia mecánica, elástica, degradación superior a la celulosa vegetal y no posee en su estructura celular la hemicelulosa y la lignina. (Palacios Duchicela, 2019)

La importancia del presenta trabajo de investigación es que se dará un aprovechamiento de los residuos agroindustriales desechadas en la zona del VRAEM; la cual generará una economía circula de gran impacto social y económica para el agricultor, y a de más de ello mediante esta investigación se busca sustituir al medio cultivo sintético con los residuos agroindustriales, para así disminuir el costo de producción de la celulosa bacteriana. Asimismo, este trabajo de investigación quedara plasmada como base científica para futuras investigaciones.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1. Internacional

Sanabria et al., (2021), En su investigación “ Biosíntesis de celulosa utilizando azúcares simples disponibles en el exudado residual de mucílago de cacao” en la Universidad Industrial de Santander - Colombia, tuvo como objetivo evaluar el rendimiento de producción de celulosa bacteriana, tasa de biosíntesis de celulosa bacteriana y tasa de conversión de sustrato en el medio cultivo, utilizando exudado de mucílago de cacao diluido/suplementado (DSCME) (exudado de mucílago, agua, peptona, extracto de levadura y citrato de sodio). Como resultado obtuvo en 16 días un rendimiento de BC de $13,13 \pm 1,09$ g/L, a comparación con $4,20 \pm 1,34$ g/L en medio HS estándar, y $0,55 \pm 0,16$ g/L con crudo CME. La tasa de biosíntesis de BC con DSCME obtuvo $0,0365 \pm 0,0030$ g/Lh, a comparación con HS $0,0093 \pm 0,0037$ g/Lh y $0,0012$ g/Lh crudo CME y la tasa de conversión del sustrato en medio DSCME obtuvo $68,23 \pm 7,03$ %.

Palacios Duchicela,(2019), de la Universidad Técnica de Ambato, en su tesis: “Producción de biofilm a partir de *Komagataeibacter xylinus*, utilizando diferentes residuos agroindustriales”, tomó como objetivo obtener biofilm empleando diferentes residuos agroindustriales (bagazo de caña, salvado de arroz y cáscara de cacao), en la cual ha utilizado un medio H-S y medio mínimo en cultivo estático y agitado. El biofilms que obtuvo a partir de cáscara de cacao tiene mejor rendimiento en el medio H-S con 17,8338 y 22,8312 % en estático y agitado respectivamente, mientras en medio mínimo obtuvo un rendimiento de 23,3169 y 16,1095 % en cultivo estático y agitado respectivamente.

Merchán Sornoza y Tigre Chango, (2019), de la Universidad de Guayaquil, presentó su tesis:

“Obtención de celulosa bacteriana a base de Kombucha por sustitución de té negro por té de cascara de café”. Tuvo como objetivo adquirir celulosa bacteriana, incorporando la bacteria *Gluconacetobacter xylinus* presente en la bebida Kombucha en un cultivo estático y con la sustitución del té negro con la infusión de la cascara de café. En donde hizo una evaluación de concentración de azúcar de 20 y 10 %, en cinco tratamientos de 0; 25; 50; 75 y 100 % de sustitución del té de cascara de café; todo este experimento en un reactor de 15 litros durante 15 días. Como resultado obtuvo la mayor producción de la celulosa bacteriana con 10 % de azúcar y con sustitución del 75 % de la infusión de cascara de café, dando como rendimiento quincenal de 25 % producción con mejores propiedades de dureza y estructura firma.

Carreño Pineda et al., (2012), en la Universidad Nacional del Colombia, en su investigación:

“Técnicas de fermentación y aplicación de la celulosa bacteria”, como objetivo, evaluar el medio cultivo estático y agitado para producir la celulosa bacteriana; en donde menciona en cultivos estáticos la celulosa se obtiene en forma de gel con 1 % de su peso total, con un rendimiento mejor que el cultivo agitado. En esta investigación llegó a concluir que el crecimiento de la célula está en función del suministro de oxígeno o sea en una interfase aire/ medio de cultivo. Asimismo, posteriormente algunos investigadores desarrollaron un medio de cultivo compuesto por: glucosa 2 % (p/v), peptona 0,5 %, extracto de levadura 0,5 %, fosfato disódico 0,27 % y ácido cítrico 0,115 % a pH 6, pues le llamaron a este medio como H-S.

Panchana Suárez y Soto Suárez, (2017), de la Universidad de Guayaquil, presentó su tesis:

“Diseño de mezcla Simple - Centroide para la optimización de un cultivo productivo de celulosa bacteriana”. En su investigación su objetivo fue evaluar un medio cultivo productor de celulosa bacteriana mediante la aplicación de la técnica del Diseño de Mezclas Simplex-Centroide, en donde realizó una evaluación sobre la influencia del lixiviado de cacao CCN-51, té-fungus de Kombucha y la levadura de cerveza como fuentes de carbono y nitrógeno para la producción y el rendimiento del medio de cultivo, siendo su variable dependiente las proporciones de cada uno. Como resultado obtuvo una producción de 4,55 g/L y el rendimiento de producción máximo

de 14,83 %, en proporciones de 73,90 % de lixiviado de cacao, 24,56 % de té de Kombucha y 1,54 % de levadura de cerveza.

Soriano y Barreto, (2018), de la Universidad de Guayaquil, en su trabajo titulado: “Síntesis y estudio de propiedades de celulosa bacteriana obtenida de piña y banano, inoculados con Kombucha”; tuvo como objetivo producir la celulosa bacteria a partir de medios de cultivo de la pulpa de piña, cáscara de piña, pulpa de banano y cascara de banano, inoculados con Kombucha. En donde produjo las películas de la celulosa bacteriana por método de cultivo estático, usando cuatro medios de cultivos con diferentes fuentes de carbono (pulpa, cascara de piña y de banano). Todo ello es realizado a 28 a 26 °C, controlando el pH y °Brix. Como resultado después de 14 días obtuvo película celulosa con una densidad promedio de 1,35 g/ cm³, con espesor de 0,29 cm a 0,84 cm y pureza entre 88,36 % y 76,82%, asimismo llegó a caracterizar las celulosas por FTIR (espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier), obteniendo una similitud entre 86,1 % a 96,4 %. El rendimiento que obtuvo fue de 12,02 g/L; 8,84 g/L; 7,88 g/L y 2, 24 g/L respectivamente a los cuatro tipos de medio de cultivo.

2.1.2. Nacional

Calderon Toledo,(2022), de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, presento su tesis:

“Producción de celulosa por *Komagataeibacter* sp. SU12 usando extracto de *Mangifera indica* (mango) para su potencial aplicación biotecnología”. En su trabajo su objetivo fue optimizar la producción de celulosa *Komagataeibacter* sp.SU12 usando extracto de *Mangifera indica* (mango), como resultado llego a concluir que la condición optima de cultivo para obtener 25,34 ± 0,83 g/L de celulosa fue de 500 g/L de extracto de mango, 30 g/L de extracto de lavadura, 3 % etanol, 100 mM buffer acetona, pH 4,7 a 30 °C durante 21 días; utilizando el diseño de Plackett Burman y factorial completa con puntos.

2.1.3. Local

De acuerdo a las revisiones bibliográficas y repositorio, así como en los sitios web, se pudo encontrar pocos antecedentes sobre el tema del estudio. Investigación

preliminar que se hizo en el ciclo de actualización profesional en la Universidad de San Cristóbal de Huamanga, como se menciona en lo siguiente:

Según (Gutierrez Sosa & Quispe Flores, 2022), de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, presenta su trabajo de investigación para optar título profesión mediante actualización profesional denominada evaluación de la producción de celulosa bacteriana Manchurian fungus utilizando mucílago de cacao (MC) y suero de leche (SL) y azúcar (AZ). Donde su objetivo fue determinar el rendimiento de la celulosa bacteria, realizando 7 tratamientos. Los componentes como el mucílago de cacao, suero de leche y azúcar representaron en un rango de 0 % a 20 % del total de la mezcla y componentes constantes que es el agua 75 %, te negro 2 % y glucosa 3%. Como resultado obtuvo aplicando el diseño simplex centroide (DSC), un rendimiento optimo con el tratamiento 1 (200 g MC, 0 g de SL, 0 g de AZ) de 104, 50 g biomasa / g sustrato. Por otro lado, en su investigación logro obtener producción de celulosa bacteriana con mejores características físicas, pero a mayor tiempo con el tratamiento 4 (100 g de MC, 100 g de SL y 0 g de AZ) y tratamiento 7 (66,66 g MC, 66,66 g de SL y 66,66 de AZ).

(Velásquez Ccosi & Peña Rojas, 2024), de la Universidad de San Cristóbal de Huamanga, en su investigación científica denominada “Efecto del medio y condiciones de cultivo en el rendimiento y calidad de celulosa para la obtención de cuero biológico”. Su objetivo fue evaluar el efecto del medio y condiciones del cultivo en el rendimiento y calidad de CB para obtener cuero biológico. Donde evaluó 10 tratamiento con tres componentes: sacarosa (SA), mucílago de cacao (MC), y suero de leche en polvo (SL). También analizó la resistencia a la tracción (TR) y el porcentaje de elongación (PE) en 7 tratamientos utilizando tres agentes curtientes: sulfato de cromo (SC), tensotan GL-50 (T-GL) y polvo de tara (PT).

Como resultado obtuvo con mayor influencia en el rendimiento de celulosa con el T1 (15 % SA, 5 % MC y 0 % SL) obteniendo $30,08 \pm 0,15$ g de biomasa / g de sustrato). Así mismo evaluó los resultados de las propiedades físico mecánicas del cuero biológico con el tratamiento T4 (5 % SC, 5 % T-GL, 0 % PT) obtuvo mejor PE ($17,22 \pm 0,80$ %) y con el tratamiento T6 (0 % SC, 5 % T-GL, 5 % PT) obtuvo el mejor RT ($23,12 \pm 0,74$ N/mm²).

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Kombucha

La kombucha es una bebida a base de té azucarada, la cual es fermentado mediante la adición de celulosa bacteriana llamado también hongos de kombucha o *Manchurian fungus*, en su estructura se encuentra conjunto de bacterias ácido acéticas y levaduras en constante simbiosis (Panchana & Soto, 2017).

Composición de la kombucha

La composición química de la kombucha está constituida por los ácidos orgánicos producidos por las bacterias y levaduras como ácido acético, glucónico y glucurónico. La composición biológica de la kombucha está constituida por el género bacteriano (*Gluconacetobacter* y *Komagataeibacter*) y el género fúngico (*Zygosaccharomyces*). (Panchana & Soto, 2017)

2.2.2. Celulosa bacteriana (CB)

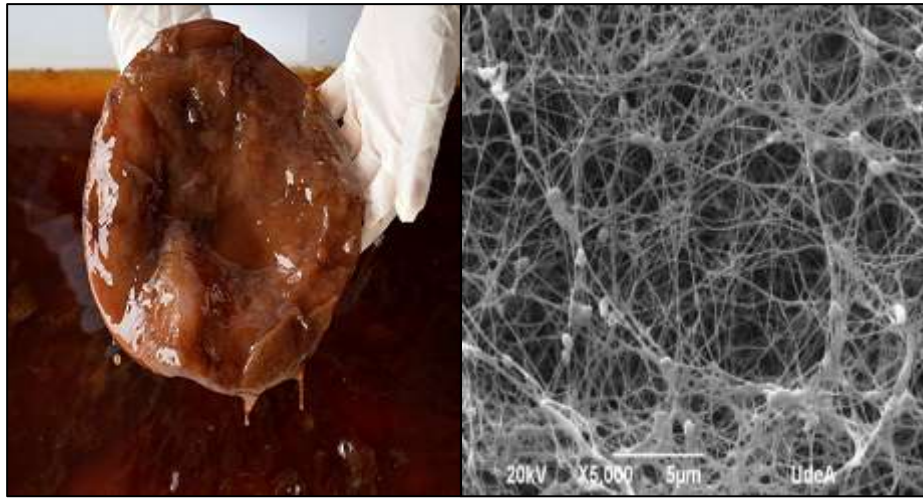
La celulosa bacteriana es una membrana gelatinosa que se desarrolla en un medio cultivo o sustrato formando una capa. La celulosa bacteria es un biopolímero compuesto por nanofibrilla de glucosa, un conjunto de 10 a 100 unidades forma una nanocintas más amplias de alta cristalinidad y pureza. Pues estas celulosas son sintetizadas por consorcio de levaduras y bacteria conocido también *Manchurian fungus* perteneciente a especie *Komagataeibacter xylinus* o *Acetobacter xylinum* (Jozala, et al, 2015, citado por Soriano & Barreto, 2018)

Panchana Suárez y Soto Suárez,(2017), afirma que:

La celulosa bacteriana está formada por una red nanométrica de celulosa de alto peso molecular, con fibra de 20 a 100 nm de diámetro y están unidos con diferentes carbonos de baja peso moléculas, uno de ellos es la D-Glucosa, las cuales son producidas por las bacterias aeróbicas como bacterias ácido acético de género *Gluconacetobacter*. (p.29)

Figura 1

Observación macroscópica y microscópica de película de celulosa bacteriana



Fuente: (Soriano & Barreto, 2018)

2.2.2.1. Taxonomía de celulosa bacteriana

La especie más resaltante de la celulosa bacteriana es el *Komagataeibacter xylinus*, a esta especie anteriormente se reconocieron como *Bacterium xylinum*, *Acetobacter xylinum* y *Gluconacetobacter xylinus*, siendo esta especie familiar de la bacteria ácida acética. El quien definió por primera vez esta especie de bacterias fue Adrián Jhon Brown en 1886, después del dio la clasificación taxonómica el Dr. Komagata en la Universidad de Tokio.(Cerde & Dávalos, 2022)

Tabla 1

Taxonomía de k. xylinus

Clasificación taxonómica	
Reino	Monera
Filo	<i>Proteobacterias</i>
Clase	<i>Alfaproteobacterias</i>
Orden	<i>Rhodospirillales</i>
Familia	<i>Acetobacteraceae</i>
Género	<i>Komagataeibacter xylinus</i>
Especies	<i>Komagataeibacter xylinus</i>

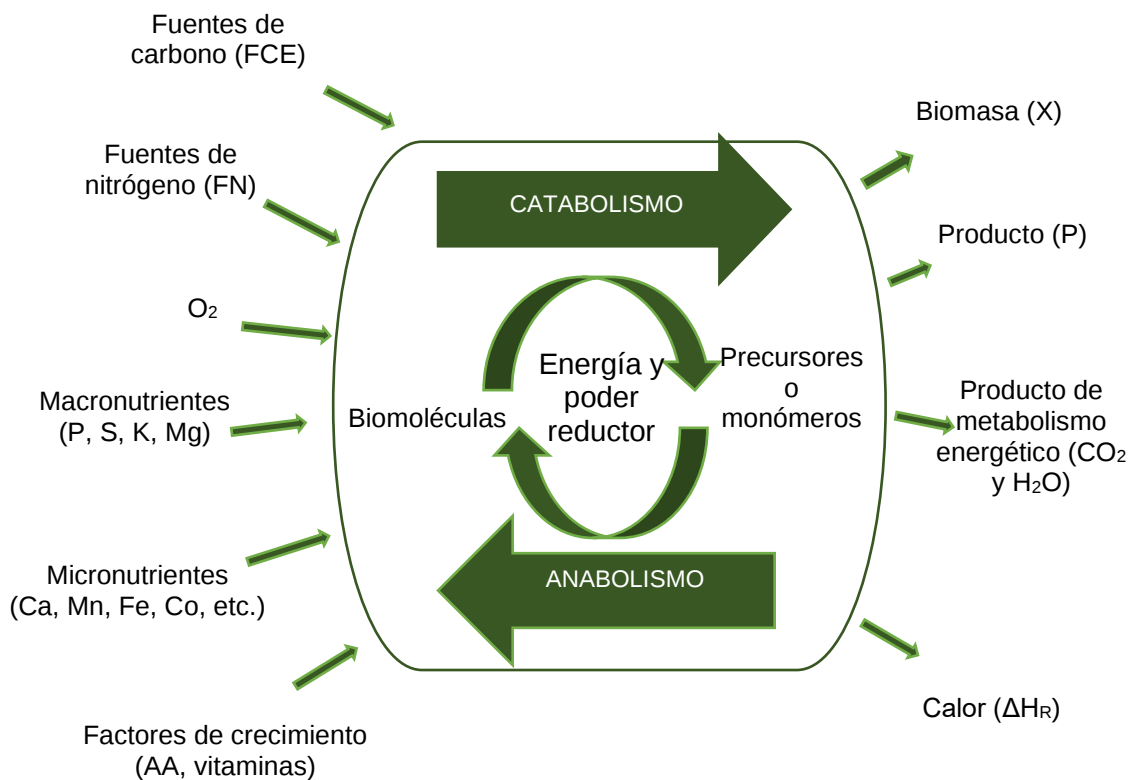
Fuente: (Yamada et al., 2012, citado por Cerda & Dávalos, 2022, p. 11)

2.2.2.2. Ecuación de crecimiento microbiano

El crecimiento microbiano es un bioproceso con reacciones químicas. Como la celulosa bacteriana son microorganismos quimioorganotrofos que lo utilizan compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía (FCE), así misma fuente de nitrógeno (FN); es así que los microorganismos requieren reactivos o nutrientes para dar un producto. (Teresita Castañeda, 2019)

Figura 2

Representación del metabolismo de un microorganismo quimio heterótrofo

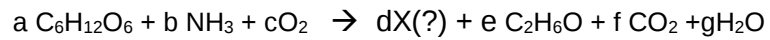


Fuente : Teresita Castañeda, (2019, p. 6)

Teresita Castañeda, (2019), afirma que

el proceso de biotransformación de los microorganismos no ocurre naturalmente, sino existe un proceso de reacciones químicas a partir de los reactivos hacia los productos como se observa en la figura 2, a continuación, se muestra una ecuación general del metabolismo de los microorganismos. (p.6)

Proceso aeróbico: $FCE + FN + O_2 \rightarrow X + P + CO_2 + H_2O + \Delta H_R$



Proceso anaeróbico: $FCE + FN \rightarrow X + P + H_2O + \Delta H_R$

Donde:

FCE: fuente de carbono y energía.

FN: fuente de nitrógeno.

X: Biomasa (microorganismos generados por reproducción celular).

P: productos no ligados al metabolismo emergentico (alcoholes, ácidos orgánicos, lípidos, polímeros, antibióticos, etc.).

ΔH_R : calor liberado por el metabolismo de los microorganismos.

2.2.2.3. Proceso de biosíntesis de celulosa bacteriana o *Manchurian fungus*.

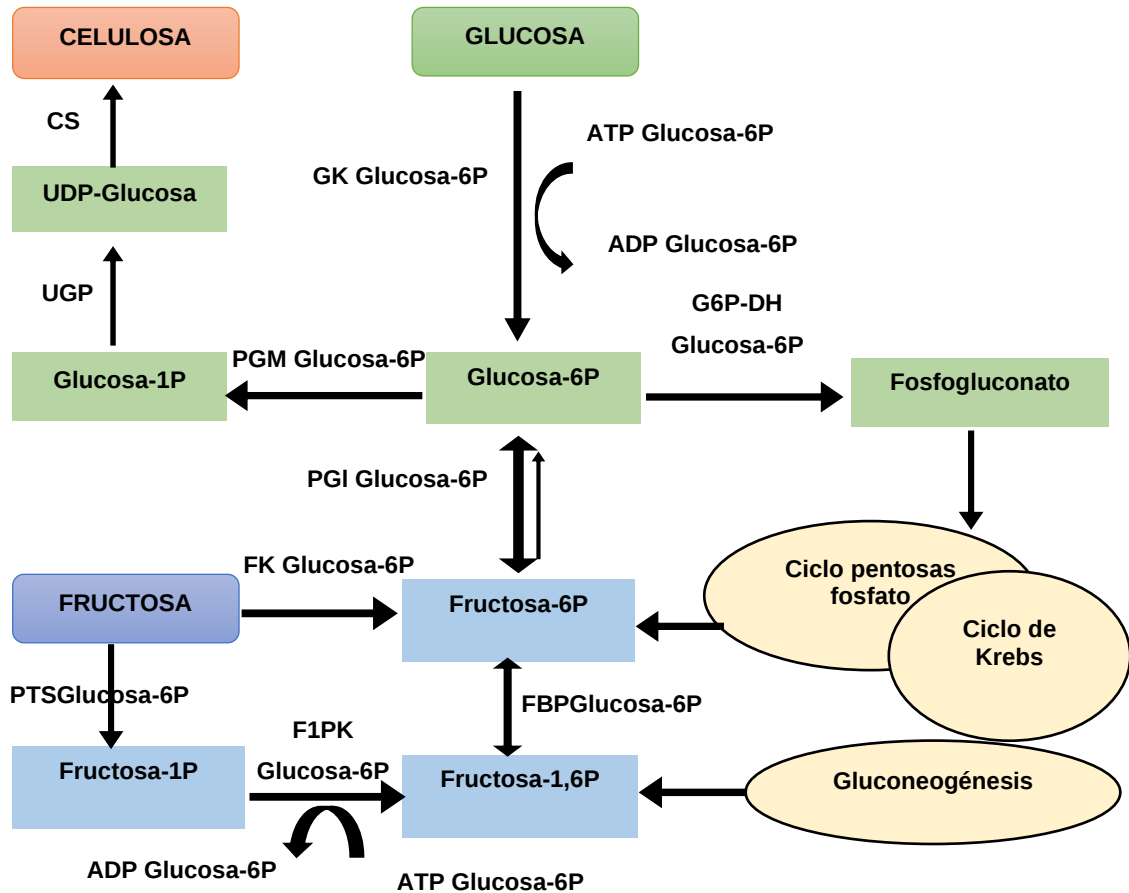
Las bacterias de género *Gluconacetobacter* producen celulosas a partir de fuentes de carbono lo que es la glucosa, sacarosa, glicerol, manitol o arabitol. La síntesis de la celulosa bacteriana se realiza en dos etapas: la primera se realiza la conversión de carbono provenientes de las diferentes fuentes en uridin difosfato glucosa (UDP-glucosa), usado como sustrato para producir la celulosa y en la segunda parte se realiza la formación de la celulosa y aislamiento del medio de cultivo. (Carreño Pineda et al., 2012)

El proceso de síntesis de celulosa empieza con el ingreso del sustrato a los microorganismos en la cual se convierte a glucosa-6-fosfato mediante la enzima galactoquinasa; luego la glucosa-6-fosfato se convierte a glucosa-1-fosfato por la operación de la enzima fosfoglucomutasa, posteriormente la glucosa-1-fosfato se convierte en UDEP-glucosa mediante la acción de la enzima UDPG pirofosforilasa, por último, por la acción de la enzima celulosa-sintasa se forma la celulosa. La segunda etapa se lleva a cabo la polimerización de celulosa, a lo seguida la excreción de la celulosa al medio de cultivo, en donde el organismo tiene poros de 3,5 nm de diámetro en la membrana celular. (Carreño Pineda et al., 2012)

2.2.2.4. Fórmula de síntesis de celulosa bacteriana.

Figura 3

Biosíntesis y ruta metabólica de fuentes de carbono para la formación de CB



Nota: CS, celulosa sintasa; FBP, fructosa-1,6-biofosfatasa; FK, fructoquinasa; G6P-DH, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa; F1PK, fructosa-1-fosfatoquinasa; PGI, fosfoglucoisomerasa; PGM, fosfoglucomutasa; PTS, fosfofructotransferasa; UGP, uridín difosfato glucopirofosforilasa; GK, glucoquinasa. **Fuente:** (Santos, 2015, citado por Soriano & Barreto, 2018, p. 16)

Soriano & Barreto, (2018), la fórmula de síntesis de celulosa bacteriana es un recorrido químico, donde se expone la formación de CB en varias etapas en presencia de enzimas y proteínas (catalíticas y reguladoras). Durante el proceso se forma UDPGlc (Uridina difosfoglucosa), esta actúa como antecesor para la formación de CB, luego el proceso continuo con la polimerización de glucosa en β -1,4 glucano. Cuando el carbono es proveniente de hexosa (glucosa y fructosa) las

bacterias presentes se convierten directamente en glucosa-6-fosfato y si proviene de glicerol o sacarosa pasa a glucogénesis y ciclo de Krebs antes de realizar el proceso metabólica.

2.2.2.5. Características de la celulosa bacteriana

La celulosa bacteriana presenta una característica muy especial al de las celulosas vegetales, ya que no contiene hemicelulosa y lignina, pues su estructura está formada por cristales de celulosa I α y I β ; esto hace que tenga características de alta resistencia mecánica, durabilidad, biocompatible, moldeable, mayor cristalinidad, flexible, insoluble, transparente, resistente a la degradación y no tóxico. De igual manera presenta porosidad y mayor área superficial, lo que hace que sea hidrofílico, pues tiene la capacidad de absorber el agua. (Soriano & Barreto, 2018)

2.2.2.6. Las propiedades de la celulosa bacteriana

La celulosa bacteriana presenta propiedades tanto fisicoquímicas, térmicas y mecánicas; pues presenta alta pureza de síntesis y cristalinidad, alta resistencia a la tracción y se adapta con facilidad a otros tejidos (Panchana & Soto, 2017).

A. Propiedades morfológicas

La morfología de la celulosa bacteriana depende mucho del microorganismo que se usa para su síntesis y así mismo de las técnicas de deshidratación. La fibra que forma al biopolímero de la CB, representa aproximadamente solo el 0,9 % y los demás es agua o medio cultivo. (Panchana & Soto, 2017)

B. Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de la celulosa bacteriana son evaluadas en forma de láminas deshidratadas, pues esta propiedad depende mucho de los diferentes factores como, por ejemplo, el tratamiento que se somete después de síntesis y extracción de medio de cultivo y otro. (cruz,2014 citado por Panchana & Soto, 2017)

Nishi et al. 1990 citado por Panchana y Soto, (2017), menciona que

para mejorar la elasticidad y la resistencia de atracción, se puede someter a hidroxido de sodio e hipoclorito de sodio en el lavado de celulosa al momento de retir del medio cultivo.(p.31)

Tabla 2*Propiedades mecánicas de la Celulosa Bacteriana y otros materiales*

Material	Módulo de eslastecidad (Gpa)	Esfuerzo a la tracción (MPa)	Elongación (%)
Celulosa Bacteriana	15 – 35	200 – 300	1,5 – 2,0
Polipropileno (PP)	1 – 1,5	30 – 40	100 – 600
Polietileno	3 – 4	50 – 70	50 – 300
Tereftalato (PET)			
Celofan	2 – 3	20 – 100	15 – 40

Fuente: (Cruz, 2014 citado por Panchana & Soto, 2017, p. 31)

C. Propiedades térmicas

La celulosa bacteriana tiene una propiedad térmica superior a los polietilenos o plásticos comerciales, pues su degradación sin ningún tratamiento o pura, está entre 290 a 298 °C y su temperatura de fusión es de 120,4 °C y la temperatura de tracción vítrea (Tg) de 13,9 °C. cuando se lo hace un tratamiento alcalino aumenta su temperatura de transición vítrea y descomposición térmica.(Cruz, 2014, pp. 21–22)

2.2.3. Métodos de cultivo de la celulosa bacteriana

Soriano y Barreto, (2018, pp. 17–18), afirma que existe dos métodos principales, de estas depende la forma de la CB y sus propiedades mecánicas. A continuación, se menciona.

A. Método de cultivos estático

En este método no presenta movimiento del medio cultivo, en donde la celulosa bacteria se forma en la parte superficial de la interfaz aire líquido. Al inicio se observa la formación de películas finas en la superficie del medio cultivo, a medida que pasa el tiempo va tomando el espesor y la forma del recipiente. Este método según las investigaciones es el que tiene mejor rendimiento en la producción de CB, pero en mayor tiempo con mejores

propiedades mecánicas, que el cultivo agitado; la desventaja de este método es que necesita mayor tiempo y un espacio grande para producir en grandes cantidades de CB y adema la capacidad de retención agua es menor. (Soriano & Barreto, 2018)

Figura 4

Producción de celulosa bacteriana en cultivo estático



Fuente: (Santos de Dios, 2015, p. 36 y 41)

B. Método de cultivo dinámico o agitado

En este método al ser agitado el cultivo, la celulosa bacteria se produce en menor tiempo, por lo que se hace un enriquecimiento con oxígeno en la agitación. En este método de cultivo la celulosa se forma en pequeñas esferas en todo el medio cultivo, pues se obtiene la celulosa con menos resistencia mecánicas, bajo grado de polimerización y cristalinidad, en cuanto a la comparación en cultivo estático. (Soriano & Barreto, 2018) y (María Guinea, 2016)

2.2.4. Medio de cultivo/ sustrato

Soriano & Barreto, (2018), afirma que el medio de cultivo o sustrato también llamado medio de fermentación / medio de crecimiento; es la que aporta nutrientes necesarios para el desarrollo y crecimiento de los microorganismos productores de celulosa. Este medio cultivo básicamente contiene fuentes de carbono, nitrógenos y otros nutrientes (fosforo, azufre, potasio, sales de magnesio y otros.), como una base fundamental para la producción de celulosa bacteriana.

Merchán Sornoza y Tigre Chango, (2019), nos menciona sobre los requerimientos nutricionales del medio de cultivo para la producción óptima de celulosa bacteriana, como: 10 % de sacarosa, 0,25 % de extracto de levadura, 0,25 % sulfato de calcio y 0,5 % de fosfato de potasio; pues estas proporciones se le conoce como el método Hestrin y Schram (HS) convencional. Con método HS en cultivo estático, se obtiene la producción de CB con un rendimiento de 18 g/L en una semana, en condiciones óptimas de temperatura 30 °C y pH 4,5 a 5; todo ello con una composición de medio de cultivo de glucosa 20 g/L, extracto de levadura 5 g/L, peptona 5 g/L, fosfato de sodio 2,7 g/L y ácido cítrico 1,115 g/L.

2.2.4.1. Parámetros que afectan el crecimiento de celulosa bacteriana en medio cultivo

- **Método de cultivo:** “el rendimiento de la producción es mayor en cultivo estático” (Soriano & Barreto, 2018, p. 19).
- **Presencia de oxígeno:** “en cultivo oxigenado o la atmosfera de concentración de oxígeno alto, hace que las bacterias aeróbicas crezcan más rápido y en atmosfera nitrogenado lo contrario” (Hestrin & Schramm, 1954 citado por Soriano & Barreto, 2018, p. 19).
- **Concentración de fuente de carbono:** el mejor rendimiento de la producción de celulosa bacteriana se da con baja concentraciones de carbono y a mayores concentraciones requiere más tiempo; pues depende mucho del fuente de carbono en rendimiento (Soriano & Barreto, 2018, p. 20).
- **pH:** “el pH del medio cultivo puede variar de 3 a 7, según las investigaciones el mejor rendimiento de producción está en un pH de 5” (Zahan & Páe, 2015; citado por Soriano & Barreto, 2018, p. 20).
“La mejor producción de CB está en un rango de pH de 5 a 6 y baja producción está debajo de pH 5” (Lima et al., 2017, p. 676)
- **Área superficial:** “La CB produce en la interfaz aire líquido, necesitando mayor área superficial para fácil crecimiento, pero sin embargo a mayor área baja el rendimiento de la producción de celulosa” (Soriano & Barreto, 2018, p. 20).
- **Efecto de la dilución:** la celulosa bacteriana puede sintetizar azúcar en una concentración de 2,5 g/L a 15 g/L sin dilución. En medio cultivo de jugo de sisal la CB puede sintetizar máximo 15 g/L de azúcar, a mayor de 20 g/L de azúcar disminuye la producción de CB.(Lima et al., 2017)

- **Efecto de la suplementación con nitrógeno:** “en mayoría de los casos la mayor producción de celulosa bacteriana con 3,38 g/L que presenta 25,16 % de rendimiento, todo ello utilizando 7,5 g/L de extracto de levadura” (Lima et al., 2017, p. 677)
- **Efecto de tiempo de cultivo:** “la producción de CB se estabiliza a los 10 días en medio sisal y 4 días en medio (sintético, H-S); la máxima producción en medio sisal es de 2,75 g/L” (Lima et al., 2017, p. 677).

2.2.4.2. Diferentes medios de cultivos

Los medios de cultivo/ sustrato en los últimos años han cambiado, por ejemplo, anteriormente los investigadores Hestrin y Schramm (H-S) hicieron un medio cultivo que tenía una composición de 2 % de glucosa, 0,5 % de peptona, 0,5 % extracto de levadura, 0,27 % de fosfato disódico anhidro y 0,15 % de ácido cítrico, todo a una temperatura de 30 °C en cultivo estático y agitado por 2 a 5 días; como resultado llegaron concluir que el rendimiento de la producción de CB es mayor en medio estático en presencia de oxígeno. En la actualidad ya se utiliza diferentes medios de cultivo como los residuos agroindustriales, siendo el método del cultivo más usada el estático y con suministro de oxígeno o en una atmosfera con buen oxígeno, esto con el fin de disminuir el costo de producción de celulosa bacteriana. (Soriano & Barreto, 2018)

Tabla 3

Fuentes de carbono, rendimiento y método de la producción de Celulosa Bacteriana

Fuentes de carbono	Producción	Bacteria empleada	Método de cultivo	Tiempo de fermentación
Jugo de cáscara de piña.	2,8 g/L	<i>Gluconacetobacter/ Komagataeibacter swingsii sp.</i>	Estático	13 días
Cáscara de la cereza del café (extracto).	5,6 – 8,2 g/L	<i>Gluconacetobacter/ Komagataeibacter hansenii UAC09</i>	Estático	7 días

Fuentes de carbono	Producción	Bacteria empleada	Método de cultivo	Tiempo de fermentación
Residuos de olivo molido seco.	0,81 – 0,85 g/L	<i>Gluconacetobacter/sacchari</i>	Estático	4 días
Jugo de naranja con fuente de nitrógeno de medio HS.	6,9 g/L	<i>Acetobacter xylinum</i> <i>NBRC13693</i>	Estático a 30 °C	14 días
Medio cultivo HS.	10,12 g/L	<i>G.xylinus</i> <i>IFO13773</i>	Estático a 28 °C	7 días
Medio cultivo HS con 1 % de lignosulfonato.	16,32 g/L	<i>G.xylinus</i> <i>IFO13693</i>	Estático a 28 °C	7 días

Fuente: (Panchana & Soto, 2017, p. 38; Soriano & Barreto, 2018, p. 21)

2.2.5. Residuos agroindustriales

Los residuos agroindustriales son subproductos de los diferentes procesos productivos, que en la actualidad es una situación que aqueja a la contaminación del medio ambiente, pero sin embargo los residuos agroindustriales tienen la potencialidad de ser aprovechados con el fin de obtener un producto nuevo y así contrarrestar la contaminación ambiental. (Vargas & Pérez, 2018)

2.2.6. Cacao

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es originario de las zonas tropicales del sur de América, pertenece a la familia de las Malváceas. Los árboles cacaotales miden aproximadamente 2 a 3 metros de altura, siendo su fruto llamado mazorca o bayas que da producción a partir de 4 o 5 años. las mazorcas miden 10 a 30 cm de largo y 8 a 10 cm de ancho, las cual contiene granos y mucílago de cacao, siendo el peso de los granos de 20 a 40 g. (Panchana & Soto, 2017, p. 40)

Figura 5

Cacao (Theobroma cacao L.)



Fuente: DEVIDA VRAEM, (2022)

2.2.6.1. Variedades de cacao

Las variedades más destacadas de cacao en el VRAEM son la variedad CCN-51, VRAE-99, VRAE-15, Criollo y Villa vista, aunque esta última variedad aún no está registrada como un clon (DEVIDA, 2022).

2.2.7. Mucílago de cacao

Mucílago de cacao o pulpa de cacao, es la que cubre a la semilla de cacao que contiene aproximado de 10 a 15 % de azúcar, 1 % de pectina y 1,5 % de ácido cítrico. El mucílago de cacao es drenado casi 5 a 7 % como exudado en la fermentación y esta se produce como desecho un promedio de 70 litros por tonelada de cacao en proceso de fermentación. (Guerrero, 2022)

Panchana & Soto (2017), “menciona que el mucílago de cacao es una sustancia viscosa, que está compuesta por polisacáridos celulósicos y azúcares, su peso molecular es inferior a 200 000 g/gmol” (p.41).

2.2.7.1. Composición de mucílago de cacao

El mucílago de cacao está compuesto con aproximado de 80 % de agua, 10 – 15 % de glucosa y fructosa, no mayor de 0,5 % de ácidos no volátiles y en pequeñas cantidades de almidón, ácidos volátiles y sales, ya que el mucílago de cacao es un medio que puede facilitar el crecimiento microbiano. (Panchana & Soto, 2017, p. 42)

Tabla 4

Composición general del mucílago de cacao

Componentes	Porcentaje en base húmedo (%)
Agua	79,20 – 84,20
Proteína cruda	0,09 – 0,11
Azúcares	12,50 – 15,90
Glucosa	11,60 – 15,32
Sacarosa	0,11 – 0,90
Pectina	0,90 – 1,19
Ácido cítrico	0,77 – 1,52
Cenizas	0,40 – 0,50

Fuente: Braudeau,2001; citado por (Panchana & Soto, 2017, p. 43)

Tabla 5

Parámetros fisicoquímicos del mucílago de cacao CCN-51 y Nacional

Parámetros	Nacional	CCN-51
Acidez (%)	0,71	0,91
pH	3,7	3,87
°Brix	15	16
Densidad	1,044	1,076
Humedad (%)	82,5	80,5
Ceniza (%)	0,44	0,38
Proteína (%)	0,87	0,78

Fuente: Barén, 2013; citado por (Panchana & Soto, 2017, p. 43)

2.2.7.2. Miel y/o concentrado de mucílago de cacao

Mucilago de cacao es una sustancia líquida y a la vez es un subproducto obtenido de las pulpas de cacao. La miel o concentrado de mucilago de cacao se obtiene mediante proceso de evaporación, por ejemplo a partir 2,50 litro de mucílago de cacao se obtiene 0,50 litro de miel en un aproximado de 1 hora 30 min a 80 – 95°C. (Vera Chang et al., 2023, p. 22)

Tabla 6

Variables fisicoquímicas de la miel obtenida a partir del mucílago de cacao

Tratamientos	Grados brix (%)		pH		Acidez (%)		Humedad (%)	
EET- 103 (T0): Nacional	49,87	c	3,64	a	17,21	a	55,51	c
CCN – 51 (T1): Trinitario	63,28	a	3,30	b	7,24	c	71,77	a
IMC – (T2): Forastero	54,65	b	3,69	a	14,73	b	61,18	b
Promedio	55,93		3,54		13,06		62,82	
CV (%)	3,08		1,20		10,92		3,34	

Nota: Medidas con una letra común no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey ($p > 0,05$)

Fuente: (Hurtado, 2018, pág. 39)

2.2.8. Café

Café (*Coffea arabica* L.), es el principal producto agrícola en la exportación en el Perú que contribuye en el desarrollo económico y social. Su habitat esta desde 1 000 a 1 500 m.s.n.m., de diferentes variedades, hasta el año 2014 en el Perú se verifico 390; 523 mil hectáreas sembradas. El café da frutos conocidos como bayas o drupas, la cual contiene semillas, pergamino, mucilago y pulpa con cáscara; el fruto maduro mide aproximado de 12,32 mm y de ancho de 9,14 mm (Palomino et al., 2014)

2.2.8.1. Composición nutricional de frutos de café

La composición nutrición en cuanto de macro y micro nutrientes se presenta a en la siguiente tabla, a partir de una muestra de 1 kilo de café almendra.

Tabla 7*Nutrientes extraídos por 1 00 kg de café almendra*

Partes del fruto	Macronutrientes (kg)						Micronutrientes (g)					
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	MgO	S	Fe	Mn	Zn	Cu	B	Mo
Café almendra	17,00	2,5	18,7	3,9	2,6	1,3	61,2	20,2	12,2	13,6	16,3	0,05
Fruto entero	34,8	5,7	64,5	9,9	4,6	2,9	112	50	84	32	51	0,12

Fuente: (Sadeghian Khalajabadi, Mejía Muñoz, & Arcila Pulgarín, 2014, pág. 253)**2.2.8.2. Cáscara de café**

En la actualidad la cáscara o la pulpa fresca de café es un residuo agroindustrial, mayor parte se utiliza para elaborar fertilizantes baratos y asimismo la cáscara de café presenta propiedades funcionales y contenido de nutrientes fenólicos.

A. Nutrientes de la cascara de café

A continuación, se muestra la composición fisicoquímica de la cascara de café.

Tabla 8*Composición fisicoquímica de la cascara de café*

Biomasa	Humedad (%)	Volátiles (%)	Cenizas (%)	C (%)	H (%)	O (%)	N (%)
Cascara de café	10,1	82	1,2	50,3	5,3	43,8	0,39

Fuente: (Fonseca, 2011, citado por (Merchán Sornoza & Tigre Chango, 2019)**2.2.8.3. Té de cascara de café**

La te de cascara de café se obtiene a partir de la infusión de la cáscara seco de café con una molida granulada, pues este té tiene capacidad antioxidante con mayor contenido de flavonoides y compuesto fenólicos y con bajo en cafeína.

El proceso obtención de té de cascara de café, inicia con la recepción de materia prima, luego pasa a selección (se toma los parámetros como: cascara de café (con aroma característico a fruta), después pasa a lavado y desinfectado con 0,5% de hipoclorito de sodio, después pasa pesado, luego las cascara se deshidratan en un horno a 60 °C por 30 min con puerta de horno semi abierto, después pasa a cocción con relación de cascara: agua (1kg : 4 litros de agua), luego pasa a filtrado, después pasa a enfriado en un baño maría inverso, por último se almacena para el medio cultivo. (Mahecha, 2016)

2.2.9. Suero de leche o lactosuero

Suero de leche es un subproducto que se obtienes al precipitar la caseína a un pH de 4,5 y elaborar los quesos, siendo un líquido de color amarillo verdoso. Esta constituido principalmente por lactosa (4,5 a 5,0 % p/v), proteínas solubles (0,6 a 0,8% p/v),lípidos (0,4 a 0,5 % p/v) y sales minerales (8 a 10% p/v) (Kaur et al., citado por Cerda & Dávalos, 2022)

2.2.9.1. Composición fisicoquímica de suero dulce y ácido.

Tabla 9

Composición fisicoquímica de suero dulce y ácido

Componentes	Suero dulce (g/L)	Suero ácido (g/L)
Solidos totales	63,0 - 70,0	63,0 - 70,0
Lactosa	46,0 – 52,0	44,0 – 46,0
Proteína	6,0 – 10,0	6,0 – 8,0
Calcio	0,4 – 0,60	1,2 – 1,6
Fosfatos	1,0 – 3,0	2,0 – 4,5
Lactato	2,0	6,4
Cloruros	1,1	1,1

Fuente: (Guevara,2018; citado por (Agualonga, Aucatoma, Sagnay, Santilla, & Jácome, 2022, pág. 6))

2.2.10. Piña

La especie *comosus L.* son especies que se adaptan con mayor productividad en las amazonias peruanas, de diferentes variedades cultivadas.

Tabla 10

Características fisicoquímicas de 100 g de pulpa de piña

Parámetros	Valores	Unidades
Grados Brix	10	
Solidos en suspensión	20 - 40	%
Acidez	0,9	
Viscosidad (100 r.p.m.;Sp1)	20 - 40	cps
Fibra	0,1	g
Proteína	0.6	g
Sacarosa	5,99	g
Glucosa	1,73	g
Fructosa	2,12	g
Calcio	13	mg
Potasio	109	mg
Magnesio	12	mg
Fosforo	8	mg
Carbohidratos	5,6	g
fibra	0,1	g
calorías	23	cal

Fuente: (Teisson et al., 2018,citado por Milca C, 2015 p. 8)

2.2.11. Diseño de experimentos con mezclas

En el entorno de muchas investigaciones y experimentos existen problemas reales al mezclar varios componentes. Puesto a ello existe el método de mezclas para determinar cual de los componentes de la mezcla influye en el variable de respuesta de interés. (Humberto & Salazar, 2012)

Según (Humberto & Salazar, 2012), la representación general para un experimento con mezclas contará con q componentes y la mezcla de estas formará un tratamiento. Las proporciones de los componentes que se introduce en la mezcla se denota por

$X_1, X_2, \dots, X_q$. Se debe tener en cuenta que las proporciones deben estar en un rango de cero y uno o deben sumar 100 %.

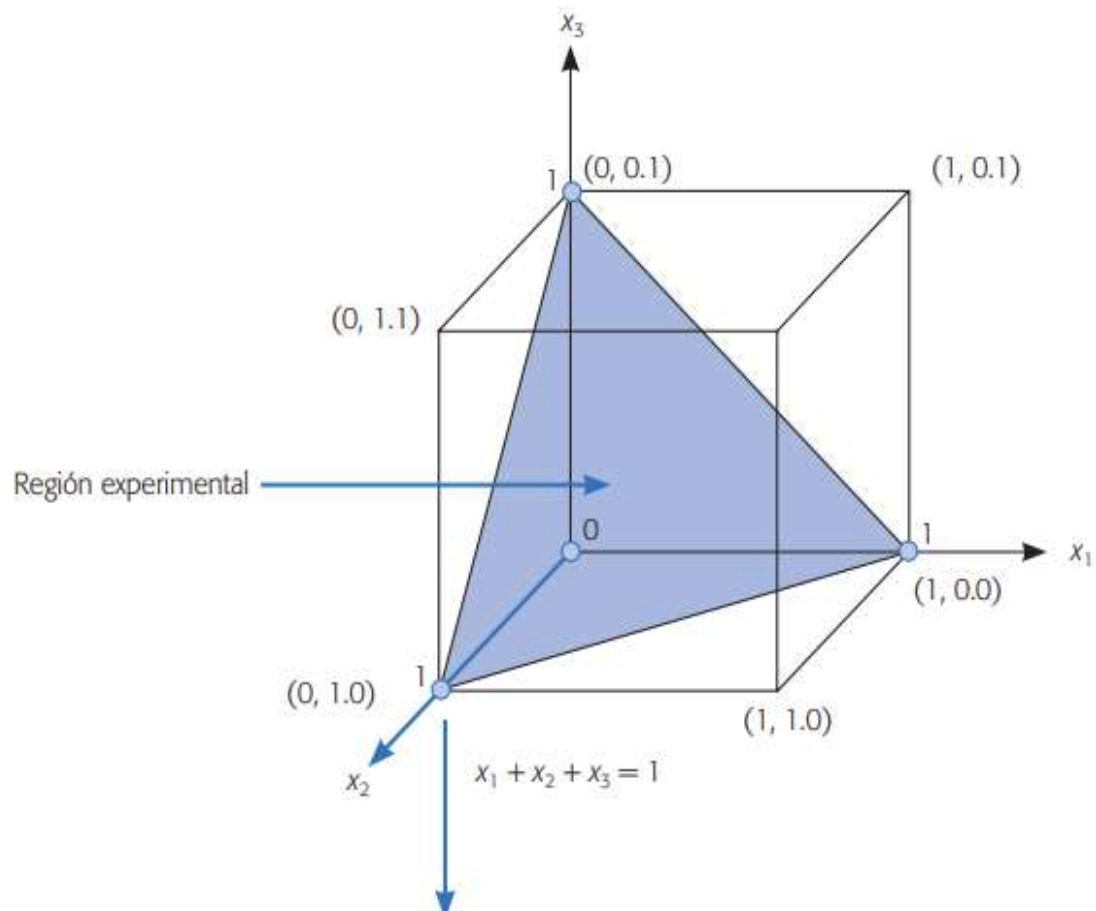
$0 \leq X_i \leq 1$, para cada componente i

$$\sum_{i=1}^q x_i = x_1 + x_2 + \dots + x_q = 1$$

En resumen, el objetivo del diseño de experimentos con mezclas es cuantificar la influencia de los componentes sobre las variables de respuesta, ya sea en forma individual, así como interacciones en los componentes. También ayuda a predecir las optimizaciones de los mejores componentes en la mezcla, ya que otros diseños tradicionales no son adecuados para realizar el análisis la influencia de varios componentes en una mezcla. (Humberto & Salazar, 2012)

Figura 6

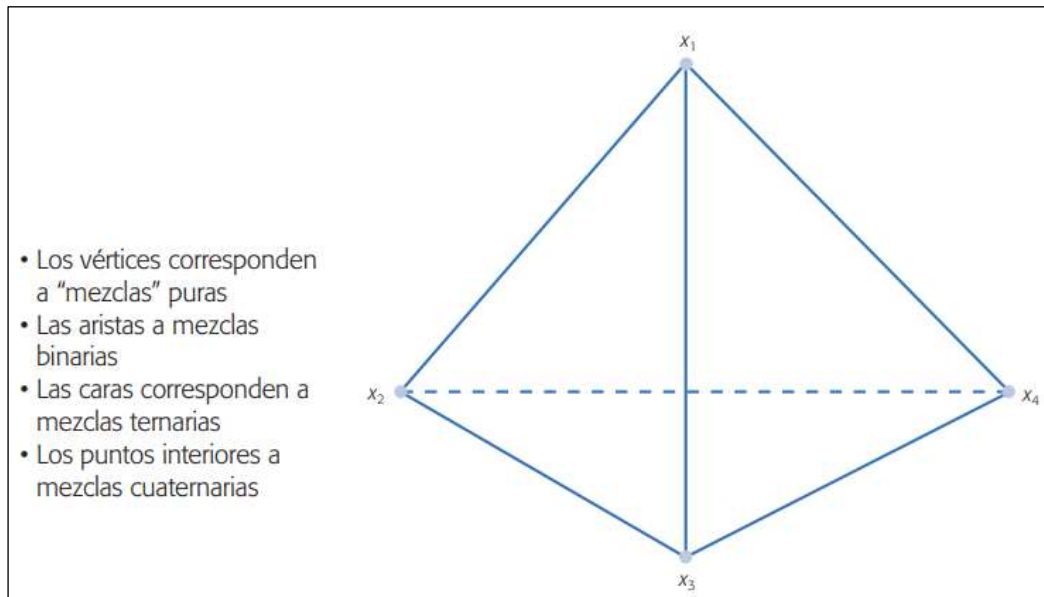
Representación geométrica de un diseño de experimentos con mezclas



Fuente: (Humberto & Salazar, 2012, p. 485)

Figura 7

Región experimental de un diseño de mezclas con $q = 4$ componentes.



Fuente: (Humberto & Salazar, 2012, p. 485)

2.2.11.1. Diseños simplex – centroide.

El diseño simplex con centroide está expresado de la siguiente forma 2^{q-1} , donde los puntos extremos están las mezclas puras, los puntos medio de cada aristas está representado $(\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, 0, 0), \dots, (0, 0, \frac{1}{2}, \frac{1}{2})$; los centroides de cada cara está formado por vértices de simplex $(\frac{1}{3}, \frac{1}{3}, \frac{1}{3}, 0, 0), \dots, (0, \dots, 0, \frac{1}{3}, \frac{1}{3}, \frac{1}{3})$ y el centroide global $(\frac{1}{q}, \dots, \frac{1}{q})$, por ejemplo para tres componentes su mezcla con valores codificadas se muestra a continuación. (Humberto & Salazar, 2012, pág. 487).

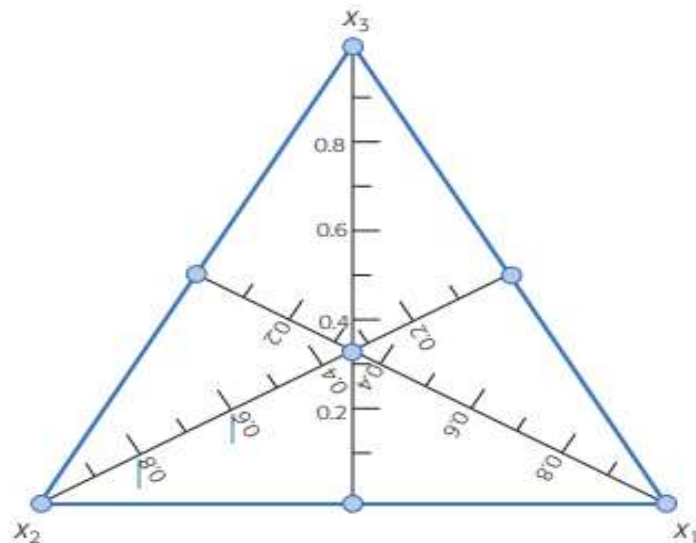
Tabla 11

Simplex con centroide de 3 componentes con su valor codificada en forma matriz

Mezclas	Proporciones con valores codificados		
	x_1	x_2	x_3
T1	1	0	0
T2	0	1	0
T3	0	0	1
T4	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	0
T5	$\frac{1}{2}$	0	$\frac{1}{2}$
T6	0	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$
T7	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$

Figura 8

Diseño simplex con centroide con tres componentes



Fuente: (Humberto & Salazar, 2012, pág. 487).

2.2.11.2. Función de deseabilidad

Según (Delgado Murillo, 2008), la función de deseabilidad ayuda a predecir y optimizar una mezcla de componentes más adecuadas con mayor influencia significativa sobre el variable de respuesta. En la función existe los valores estimados de mínimo a máximo.

La expresión general de la función de deseabilidad:

$$d_{ki} = f_k(y_{ki}) \quad 0 \leq d_{ki} \leq 1$$

Donde:

K = es el criterio seleccionado

f = es el tipo de función utilizada

y_{ki} = es el enésimo valor i-enésimo muestra por el criterio k-enésimo.

Esta función de deseabilidad es básicamente modelado por el software Minitab y Statgraphics.

2.2.12. Aplicaciones de la celulosa bacteriana

La celulosa bacteriana en los últimos años ha aumentado en los últimos años, por sus propiedades únicas y estructuras que difieren de otras celulosas. En la actualidad se CB se aplica en campo de biotecnología, biomédicas, microbiología y ciencias de materiales, por lo que favorece la ausencia de otras sustancias en su procesamiento. (Santos de Dios, 2015). A continuación, se muestra las diferentes aplicaciones.

Medicina

En el campo de medicina la celulosa bacteria es usado como sustituto temporal de la piel causado por las quemaduras, heridas, úlceras, etc. Se a demostrado pruebas en tratamiento de quemaduras con CB, la cual demuestra la curación más rápida con menos cicatrices. También se hizo estudios en restauración de tejidos cartilagosos mediante aplicación de CB. (Santos de Dios, 2015).

Alimentación

Desde la etapa antigua de filipinas utilizaron como alimento la celulosa bacteriana, en donde lo conocían con el nombre de nata de coco. Su consumo lo hicieron forma de bebidas dietéticas. (Iguchi et al., 2000 citado por Santos de Dios, 2015).

Electrónica

Según los estudios se han realizado membranas de celulosa bacteriana con alta conductividad eléctrica para dispositivos de emisores de luz. Como por ejemplo por su alta velocidad sónica han utilizado como membrana acústica en altavoces y auriculares, posteriormente es comercializado por la compañía Sony. (Santos de Dios, 2015).

Membrana de separación

La celulosa bacteriana se puede utilizarse en la separación de soluciones acuosas, como por ejemplo en los filtros moleculares, ultrafiltración, diálisis, y otros. (Santos de Dios, 2015)

Papel

En algunas investigaciones ha demostrado que al añadir un porcentaje de CB a la fibra vegetal para la elaboración de papel, como resultado obtuvieron papeles con mejores propiedades mecánicas. Según (Gao et al., 2011 citado por Santos de Dios,

2015), al añadir el 5% de la celulosa bacteriana a una pasta de papel aumenta el índice de desgarró y el estallido. Sin embargo, están en proceso de estudios la utilización de celulosa bacteriana en materiales biodegradables.

Tabla 12

Aplicaciones industriales de celulosa bacteriana

Industria	Aplicaciones
Cosmética	Estabilización de emulsiones, acondicionadores, cremas. Generación de uñas artificiales.
Textil	Material de alta absorción acuosa.
Refinería	Absorción de toxinas y aceites.
Papel	Papel con mejores propiedades mecánicas.
Alimentos	Aditivos de alimentos, fibras dietéticas y bebidas probióticas.
Turístico	Ropa deportivas y equipo de acampar.
Investigación	Inmovilización de proteínas y células, resinas para cromatografía.
Tecnología	Diafragma de alta sensibilidad en micrófonos y audífonos.
Medicina	Terapia de piel quemada. Componentes en implantes dentales.

Fuente: Krystynowlez & Bleleckl, 2002 citado por (Chavez Pacheco, Martinez Yee, Contreras Centella, & Escamilla Marvan, 2004)

2.3. MARCO CONCEPTUAL

- Kombucha: también conocido como hongo manchú, es una bebida obtenida a base de te endulzado, mediante fermentación de un conjunto de microorganismos y levaduras.
- Celulosa bacteriana: es un biopolímero gelatinoso sintetizada por un conjunto de levaduras y bacterias conocidos como *Manchurian fungus*.
- Proporción pura: es una medida estadística, que estudia una sola variable de interés.

- Proporción binaria, ternaria y cuaternaria: es una medida estadística, que estudia una dos a más variable de interés.
- Sustrato/ medio de cultivo: es el medio que aporta nutrientes necesarios para el desarrollo y crecimiento de los microorganismos productores de celulosa.
- Residuos agroindustriales: es un subproducto de los diferentes procesos productivos y/o postcosechas y a la vez son las que generan contaminación ambiental.
- Rendimiento: el rendimiento microbiológico es la biomasa producida en relación a la cantidad de sustrato consumido.
- Simbiosis: es la interacción mutua entre dos o más organismos biológicos en un determinado espacio.
- D – Glucosa: es la glucosa o azúcares libres que están en las frutas y mieles, las cuales son metabolizadas por las enzimas de los humanos.
- Quimiorganotrofos: son aquellos que obtienen su energía a partir de los compuestos orgánicos, como los azúcares, proteínas y las grasas.
- Catabolismo: descomposición de moléculas y producción de energía para la actividad celular.
- Anabolismo: es la síntesis de moléculas y consumo de energía.
- Biomoléculas: son compuestos químicos que están en los organismos vivos.
- Biopolímero: son macromoléculas sintetizadas por los seres vivos.
- FCE: Fuentes de Carbono y Energía.
- FN: Fuente de Nitrógeno.
- Hemicelulosa: son polisacáridos que forman tejido celular de los diferentes vegetales.
- Lignina: es un heteropolímero que constituye el tejido vascular de las plantas, proporcionando la rigidez y la resistencia.
- CB: Celulosa Bacteriana.
- HS: medio de cultivo de tipo Hestrin y Schram.
- Scobis: es una biopelícula de textura gelatinosa, principalmente se encuentra flotando sobre el medio cultivo. También se le conoce como madre de la Kombucha.
- Inoculación: introducción de microorganismos a un medio cultivo para su crecimiento y producción.

III. MÉTODOS Y MATERIALES

3.1. TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACIÓN

3.1.1. Tipo de investigación

La investigación que se realizó es de tipo aplicada según el origen; donde se evaluó la influencia de los diferentes sustratos en el rendimiento y calidad de la Kombucha (*Manchurian fungus*) (Lozada J. , 2014).

3.1.2. Nivel de investigación

La presente investigación es de un nivel explicativo, ya que se realizó de forma experimental con la manipulación de variables independiente; pues tuvo como finalidad de evaluar la influencia de la variable independiente sobre las variables dependientes. (Hernández Sampieri, Fernández Collado, & Pilar Baptista, 2014, pág. 95)

3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

En la presente investigación se aplicó el Diseño Simplex Centroide (DSC), con 4 componentes (MC, SL, CF, DPC) para formular una mezcla de proporción de cada componente, considerando un criterio de rango 0 y 1, es decir, $0 \leq x_i \leq 1$; que permitió evaluar el efecto de las proporciones de cada componente en el rendimiento de la celulosa bacteriana. (Velásquez Ccosi P. F., 2017)

Tabla 13*Valores reales para la evaluación del rendimiento de celulosa bacteriana.*

N° de Tratamientos	Variables independientes							
	Proporciones de componentes codificado				Proporciones de componentes reales (%)			
	CF	MC	SL	DPC	CF	MC	SL	DPC
T1	1	0	0	0	30	0	0	0
T2	0	1	0	0	0	30	0	0
T3	0	0	1	0	0	0	30	0
T4	0	0	0	1	0	0	0	30
T5	½	½	0	0	15	15	0	0
T6	½	0	½	0	15	0	15	0
T7	½	0	0	½	15	0	0	15
T8	0	½	½	0	0	15	15	0
T9	0	½	0	½	0	15	0	15
T10	0	0	½	½	0	0	15	15
T11	1/3	1/3	1/3	0	10	10	10	0
T12	1/3	1/3	0	1/3	10	10	0	10
T13	1/3	0	1/3	1/3	10	0	10	10
T14	0	1/3	1/3	1/3	0	10	10	10
T15	1/4	1/4	1/4	1/4	7,5	7,5	7,5	7,5

Nota: MC (mucílago de cacao), SL (suero de leche), CF (cascara de café), DPC (descartes de piña en concentrado).

Tabla 14

Arreglo de la formulación con diferentes fuentes de carbono.

N° de Tratamientos	Componentes manipulados				Componentes constantes		Mezcla Total 100%	Variable de respuesta
	30%				5%	65%		
	CF (%)	MC (%)	SL (%)	DPC (%)	Té negro (%)	Agua (%)		
T1	30	0	0	0	5	65	100	RMF: Rendimiento de <i>Manchurian fungus</i> (g biomasa / g de sustrato)
T2	0	30	0	0	5	65	100	
T3	0	0	30	0	5	65	100	
T4	0	0	0	30	5	65	100	
T5	15	15	0	0	5	65	100	
T6	15	0	15	0	5	65	100	
T7	15	0	0	15	5	65	100	
T8	0	15	15	0	5	65	100	
T9	0	15	0	15	5	65	100	
T10	0	0	15	15	5	65	100	
T11	10	10	10	0	5	65	100	
T12	10	10	0	10	5	65	100	
T13	10	0	10	10	5	65	100	
T14	0	10	10	10	5	65	100	
T15	7,5	7,5	7,5	7,5	5	65	100	

Nota: MC (mucílago de cacao), SL (suero de leche), CF (cascara de café), DPC (descartes de piña en concentrado), RMF (rendimiento de *Manchurian fungus*)

3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

Población: kombucha (cepa madre)

Muestra: promedio de 15 g de Kombucha / 700 mL de solución de medio de cultivo; por cada tratamiento.

Muestreo: se hizo muestreo probabilístico de aleatorio simple.

3.4. VARIABLES E INDICADORES

La investigación es de tipo aplicada, pues presenta variables dependientes e independientes, en la cual la variable independiente se manipuló.

Tabla 15

Operacionalización de variables

Variables	Niveles de variables		Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	
X (Variables independientes) Medios de cultivo.	X₁	Mucílago de cacao	Es la fuente de carbono que está compuesto por azúcares, glucosa, fructosa, ácidos cítricos, otros. Sirve para la biosíntesis de consorcio de Kombucha.	Se utilizará como el medio cultivo en remplazo de azúcar/ sacarosa; pasará por un proceso de filtración, evaporación hasta concentrado con apariencia a miel.	X_{1.1}	Gramos (g) de mucílago de cacao concentrado con apariencia a miel, °Brix, pH.
	X₂	Suero de leche	Es la fuente de nitrógeno y carbono, obtenido mediante la precipitación de la caseína en el proceso de obtención de queso, que contiene: lactosa, proteínas y otros.	Se utilizará como sustrato del medio cultivo, en remplazo de fuentes de nitrógeno; pasando un proceso de pasteurizado e hidrólisis.	X_{2.1}	Gramos (g) de suero de leche, °Brix, pH.
	X₃	Descarte de piña.	La piña es la fuente de carbono que contiene la fructosa, glucosa y otros nutrientes.	Se incorporará al medio cultivo en forma concentrado con apariencia a miel, pasando un proceso de troceado, filtración y evaporación; se usará en remplazo de azúcar.	X_{3.1}	Gramos (g) de concentrado de piña apariencia a miel. °Brix, pH
	X₄	Cascara café	Cáscara fresca de los granos café es un residuo que contiene nitrógeno, cafeína, teobromina y otros.	Las cascara molidas serán incorporadas al medio de cultivo en forma de infusión debidamente filtrada según el tratamiento correspondiente.	X_{4.1}	Gramos (g) de cascara de café.
Y (Variables dependientes) Rendimiento de la producción de Kombucha (<i>Manchurian fungus</i>).	Y₁	Rendimiento de biomasa de <i>Manchurian fungus</i>	Es la cantidad de <i>Manchurian fungus</i> que se obtiene en un determinado tiempo, en cierta cantidad de sustrato.	El rendimiento obtenido de la <i>Manchurian fungus</i> es igual a los gramos de biomasa entre los gramos de sustrato agregado al medio cultivo (g/g).	Y_{1.1}	Peso de biomasa de <i>Manchurian fungus</i> producida entre gramos de sustrato del cultivo. (g/g). °Brix, pH y espesor (cm).

3.5. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Las técnicas e instrumentos necesarios para recolección de datos de la presente investigación se presentan a continuación.

Tabla 16

técnicas e instrumentos de recolección de datos

Objetivos	Técnica	Instrumentos	Recolección de datos
Determinar las proporciones de mucílago de cacao, cáscara de café, suero de leche y descartes de piña conformantes del medio de cultivo, para la producción de celulosa bacteriana (<i>Manchurian fungus</i>).	Observación	Ficha de registro de datos, hojas de cálculos.	Parámetro de °Brix, pH, temperatura, gramos de cada proporción.
Evaluar el efecto de las proporciones puras, binarias, ternarias y cuaternarias de los componentes en la producción de celulosa bacteriana con un Diseño de Mezclas Simplex Centroide.	Observación, monitoreo del efecto de las proporciones.	Fichas de registro de datos, refractómetro, pHmetro, programa Minitab, vernier	Rendimiento (g CB/ g de sustrato), espesor (cm), pH, °Brix.
Optimizar las proporciones que maximizan el rendimiento en la producción de celulosas bacteria a través de un Diseño Simplex Centroide.	Observación	Hojas de cálculo y fichas de registro de datos, Software Minitab y Excel.	Datos cuantificados en gramos de las proporciones optimizadas.

Tabla 17

Procedimientos de recolección de datos

Procedimiento	Recolección de datos
Determinación de las proporciones de mucílago de cacao, cáscara de café, suero de leche y descartes de piña conformantes del medio de cultivo.	Laboratorio de Curtiembre de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
Evaluación del efecto de las proporciones puras, binarias, ternarias y cuaternarias en la producción de celulosa bacteriana.	Laboratorio de Curtiembre de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.
Optimización las proporciones que maximizan el rendimiento en la producción de celulosas bacteria.	Laboratorio de Curtiembre de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.5.1. Procedimientos de recolección de datos

A continuación, se describe de manera detallada los procedimientos para la recolección de datos.

A. Reconocimiento de área de estudio

En esta etapa se procedió verificar la disponibilidad del ambiente, equipos y materiales del Laboratorio de Curtiembre de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia.

B. Recopilación de materiales

Se recopiló los materiales más necesarios para realizar el presente trabajo de investigación que lleva por título: Formulación de un sustrato para la producción de kombucha (*Manchurian fungus*) a partir de residuos agroindustriales provenientes del VRAEM.

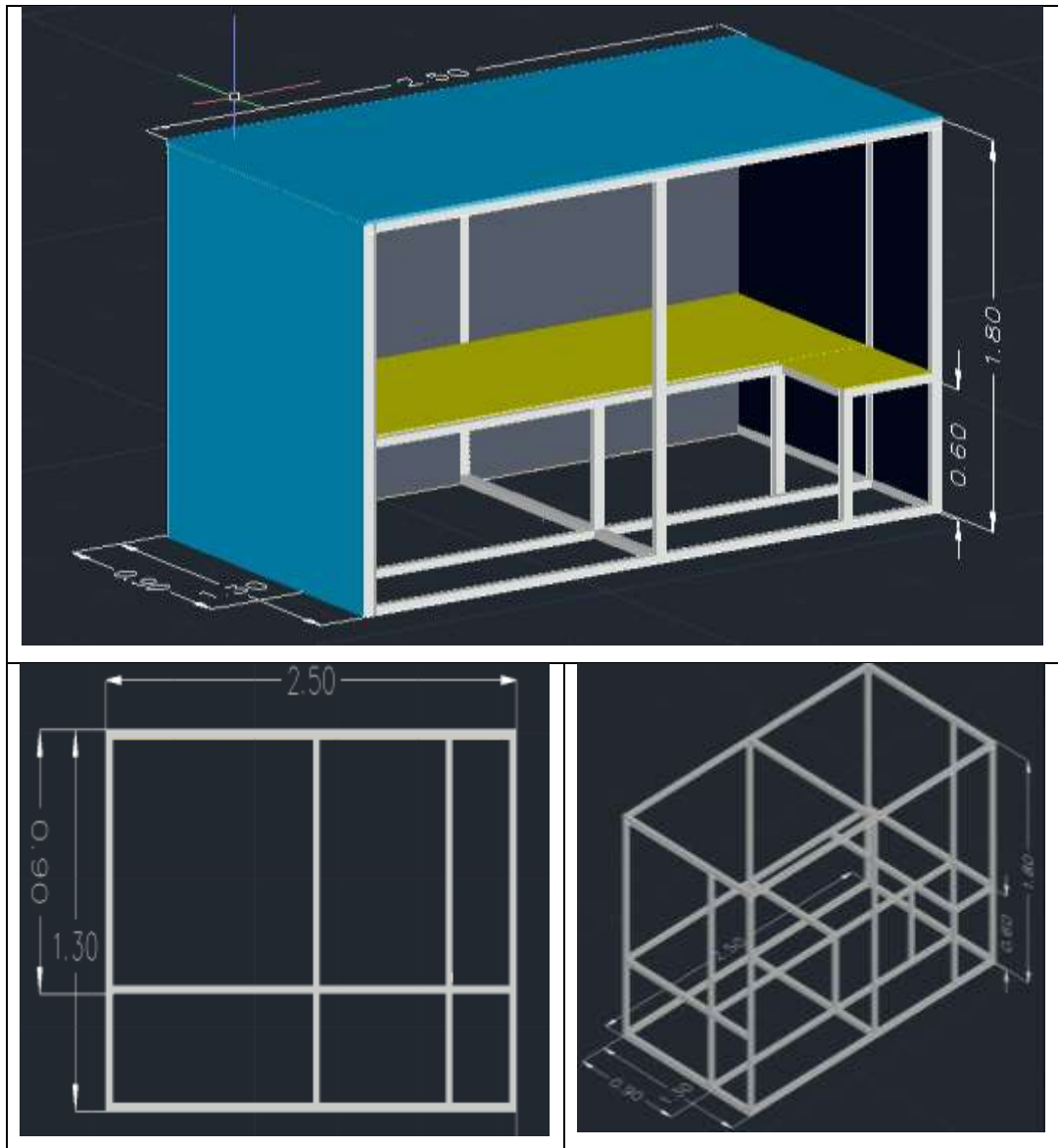
C. Construcción de cámara de incubación

La construcción de la cámara de incubación se realizó con la finalidad acumular la temperatura a un promediando 28 °C a 30 °C y para evitar la contaminación de las muestras.

Diseño preliminar: se hizo un diseño preliminar en 2D y 3D con medidas de 2,50 m de largo; 1,80 m de altura y 1,30 m de ancho.

Figura 9

Diseño preliminar en 3D y 2D de la cámara de incubación



Construcción de cámara de incubación: se construyó con listones de madera y forrado con plástico de doble cara, posteriormente se instala termómetro y los focos incandescentes.

Figura 10

Construcción de cámara de incubación



Figura 11

Acabado de construcción de cámara de incubación



En las figuras 9, 10 y 11 se observa el proceso de construcción y el acabado de cámara de incubación. La forma, el tamaño y los materiales de la construcción de la

cámara de incubación fue de acuerdo a la cantidad de tratamientos en los respectivos recipientes y de los parámetros del ambiente dentro de la cámara.

D. Actividades de obtención de muestra

La actividad de obtención de la muestra en esta investigación se realizó mediante muestreo aleatorio simple de la población de medio cultivo que está en laboratorio de curtiembres, de las cuales se tomaron 5 muestras de un promedio de 18 a 20 g de peso, para luego producir 15 muestras de scobys o inóculos para cada tratamiento que se indica.

Figura 12

Inoculación de scobys en solución azucarada y acondicionamiento en cámara de incubación



Nota: en la figura 12 se observa 5 muestras de scobys inoculadas en solución azucarada de 200 mL respectivamente y es acondicionado en cámara de incubación para luego producir 15 scobys, las cuales fueron como muestra principal para evaluar en los diferentes medios de cultivo según los tratamientos.

Figura 13

Producción de scobys a los 14 días



E. Recolección de materia prima

En la presente investigación se procedió recolectar las materias primas como: mucilago de cacao, cáscara de café, descartes de piña de zona del Pichari-VRAEM y el suero de leche de las zonas aledaños de la ciudad de Ayacucho, las cuales son provenientes de los residuos agroindustriales.

F. Preparación de medio cultivo

En el presente trabajo, el medio de cultivo es de tipo estático, para lo cual primero se procedió preparar el concentrado de mucilago de cacao en forma de miel, concentrado de los descartes de piña en forma de miel, esterilizado de suero de leche y cáscara de café seco molido molidas. A continuación, se menciona cada proceso:

- **Operaciones para la obtención de concentrado de mucilago de cacao con apariencia a miel.**

Recepción de mazorcas de cacao: las mazorcas de cacao de variedad CCN-51 y VREM-99 fueron recepcionados en un lugar libre de contaminantes en el Laboratorio de Curtiembre.

Selección/ lavado: las mazorcas de cacao fueron seleccionadas según los daños físicos, biológicos y otros materiales contaminantes. Luego se procedió a lavar con aguas potables y desinfectadas en solución de cloro 2,5 mL en 5 litros de agua por 5 min. Por último se pasó a enjuagar con agua destilada y puesto a escurrido (Guti & Quispe, 2022).

Desmucilaginado: en este proceso se cortó las mazorcas, para luego retirar de la placenta el mucilago (pulpa blanca) y las semillas. El mucilago fue separado de las semillas mediante acción mecánica de frotamiento y escurrido, para luego pasar al siguiente proceso.

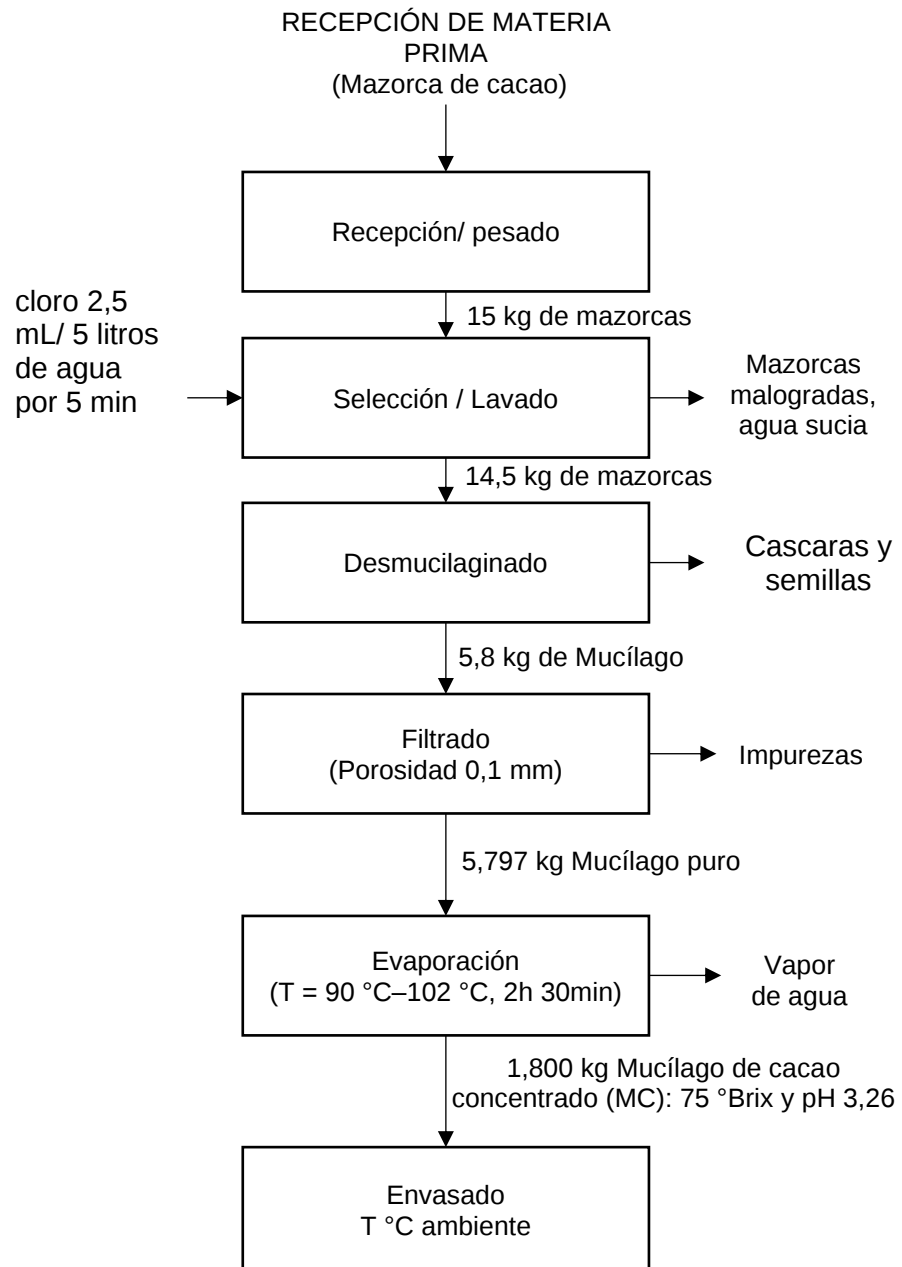
Filtrado: en este proceso se realizó filtrado mediante filtro de tela convencional de 0,1 mm de diámetro, para retirar las partículas sólidas, venas y fibrillas, luego se depositó en un recipiente una cantidad de 5,797 kilogramos de mucílago.

Evaporación: el mucilago de cacao filtrado se procedió a evaporar durante 2 horas con 25 minutos en un promedio 95 °C a 102 °C de temperatura, donde llega a concentrarse los azúcares con apariencia y textura a miel.

Envasado: finalmente el mucilago concentrado con apariencia a miel de 75 °Brix y pH 3,26; se envasó en bolsa de polietileno con cierre hermético y enfriado hasta temperatura ambiente.

Figura 14

Diagrama de flujo de operación para la obtención de concentrado de mucílago de cacao con apariencia a miel.



- **Procesos obtención de suero de leche**

Recepción de materia prima: al momento de recepcionar el suero de leche se procedió verificar si el suero está estable de acuerdo al mencionado de (Loachmin & Narvaez, 2021 citado por (Gutierrez Sosa & Quispe Flores, 2022), que el pH debe estar entre 4,8 a 6,8 y el de azúcar en °Brix de 6 – 8 %.

Pasteurizado: al suero de leche se le pasteurizó a temperatura 70 °C por 15 min, con el fin inhibir el crecimiento bacteriano, como bacterias ácido – lácticas, así para que no impidan la nutrición y la biosíntesis microbiana.

Hidrolisis: este proceso de hidrolisis enzimático se hizo con el fin mejorar la capacidad asimilada de lactosa por los microorganismos. Para ello se procedió incubar a 40 °C con Lactozyn 4 mL/ L de suero de leche, de acuerdo a lo mencionado por (Juárez, 2011; citado por (Gutierrez Sosa & Quispe Flores, 2022).

Hidrolisis de la lactosa con lactasa.



- **Procesos de obtención de concentrado de los descartes de piña con apariencia a miel.**

Recepción de materia prima: se recepcionó las piñas de descarte de variedad Golden, proveniente del distrito Pichari, en un lugar limpio y libre contaminantes.

Selección / lavado: se seleccionó de acuerdo a la evaluación de daños biológicos y parámetros de 15 °Brix, pH 3,48; luego es lavado y desinfectado con cloro 2,5 mL en 5 litros de agua por 5 min.

Pesado y descascarado: en este proceso se hizo el pesado en la balanza analítica, luego se retiró las cascaras con un cuchillo.

Cortado y machacado: en este proceso se cortó con un cuchillo y machacado por acción mecánica con la mano.

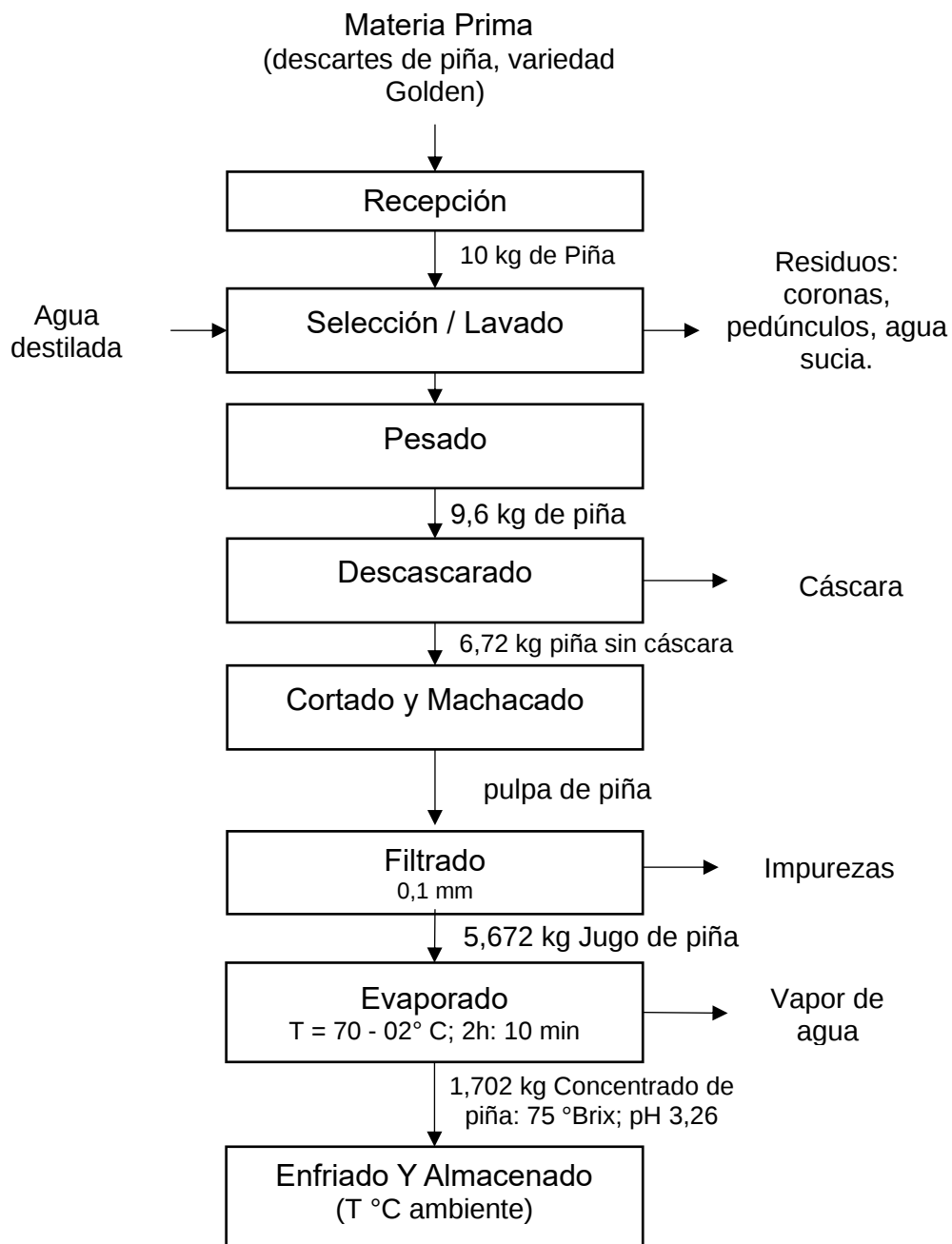
Filtrado: se realizó filtrado mediante filtro de tela convencional de 0,1 mm de diámetro, para retirar las partículas sólidas, venas y fibrillas, luego se depositó 5,672 kilos de jugo de piña en un recipiente.

Evaporación: el jugo de piña filtrada se procedió a evaporar durante 2 horas con 10 minutos en un promedio 95 °C a 102 °C, donde llega concentrarse los azucares con apariencia y textura a miel.

Enfriado y almacenado: luego de concentrarlo hasta 75 °Brix y pH 3,26; se envasó en bolsa de polietileno con cierre hermético y enfriado hasta temperatura ambiente para almacenamiento.

Figura 15

Diagrama de flujo de operación para la obtención de concentrado de piña.



- **Procesos obtención de cascara molida de café**

Recepción: se recepcionó las cascara frescas de café Caturra y Geisha proveniente de la comunidad Villa el Salvador, Pichari - Vraem; las cuales fueron acondicionadas en un ambiente libre de contaminantes.

Selección y desinfección: se hizo la selección de las cascara con daños físicos y biológicos y luego desinfectado con Cloro 2,5 mL/ 5 litros de agua por 5 min.

pesado: luego de seleccionar y desinfectar se procedió a pesar 22 kilos de cascara de café fresca.

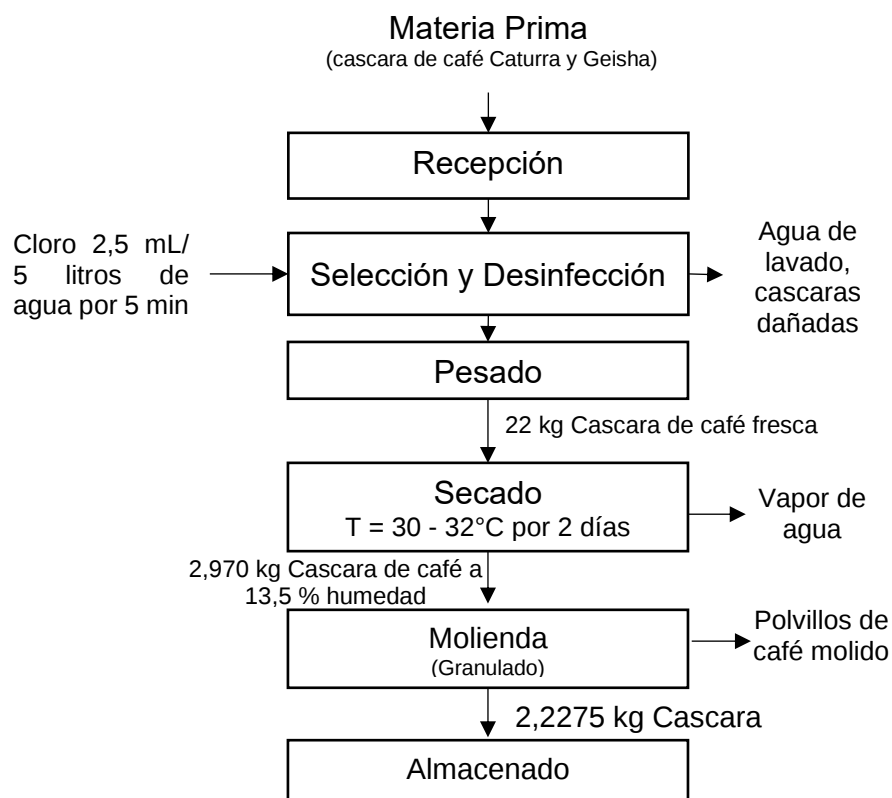
Secado: el secado se hizo a temperatura ambiente que bordea de 30 a 32 °C, en un aproximado de 2 días en el distrito de Pichari. Obteniendo la cascara seco de 2,970 kg con 13,5% humedad en base seca.

Molienda: se hizo una molienda granulada con molino de martillo donde se perdió casi el 25%, obteniendo 2,2275 kg cascara de café molida.

Almacenado: las cascara molidas fueron almacenada en un plástico con cierre hermético en ambiente seco.

Figura 16

Diagrama de flujo de operación para la obtención de cascara molida de café



G. Formulación del medio cultivo o sustrato productor

Una vez dispuesto los componentes MC (mucílago de cacao), SL (suero de leche), CF (cascara de café), DPC (descarte de piña en concentrado), se procedió formular 15 tratamientos tanto tratamientos puras, binarias, ternarias y cuaternarias según el diseño simplex centroide, todo ello en un medio cultivo estático. Los componentes constantes fue el té negro (5%) como fuente de nitrógeno y agua destilada (65%); las componentes manipuladas fue el 30% de la mezcla total, de acuerdo a las siguientes proporciones mucilago de cacao (0 - 30%), suero de leche (0 - 30%), cascara de café (0 - 30%), descarte de piña en concentrado (0 - 30%).

Tabla 18

Valores reales de los componentes para la evaluación de rendimiento de biomasa según el diseño de mezclas Simplex - Centroide

N° Tratamientos	Variables Independientes				Componentes constantes		Variable dependiente
	30%				5%	65%	
	Mucilago de cacao (g)	suero de leche (g)	Descartes de piña en concentrado (g)	cascara seco de café (g)	té negro (g)	agua (g)	
	MC	SL	DPC	CF			
T1	210	0	0	0	35	455	a
T2	0	210	0	0	35	455	b
T3	0	0	210	0	35	455	c
T4	0	0	0	210	35	455	d
T5	105	105	0	0	35	455	e
T6	105	0	105	0	35	455	f
T7	105	0	0	105	35	455	g
T8	0	105	105	0	35	455	h
T9	0	105	0	105	35	455	i
T10	0	0	105	105	35	455	j
T11	70	70	70	0	35	455	k
T12	70	70	0	70	35	455	l
T13	70	0	70	70	35	455	m
T14	0	70	70	70	35	455	n
T15	52,5	52,5	52,5	52,5	35	455	o

Nota: los valores (a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m, n, o) son determinadas de manera experimental.

H. Operaciones para la obtención de *Manchurian fungus*.

Para la obtención de *Manchurian fungus* se procedió formular el medio cultivo/ sustrato a partir de los componentes MC (mucílago de cacao), SL (suero de leche), CF (cascara de café), DPC (descarte de piña en concentrado). Para ello se inició con el proceso de mezclado y luego con los procesos que se describe a continuación.

Mezclado: los componentes MC (mucílago de cacao), SL (suero de leche), CF (cascara de café), DPC (descarte de piña en concentrado) ya dispuesta se procedió a mezclar con las proporciones respectivas para cada tratamiento pura, binaria, ternaria y cuaternaria; siendo la mezcla total de 700 g para cada tratamiento en un recipiente rectangulares de acero inoxidable AISI 304 de medida de 36cmx27cmx4,8cm. Cabe recalcar los compones como el té negro y cascara molida de café fueron incorporados a la mezcla en forma de infusión, pasando un proceso de hervor con la cantidad de 65% agua y filtrado para cada tratamiento. Finalmente, luego de mezclar todo el componente se procedió a medir los parámetros iniciales como el brix, pH y temperatura.

Inoculado: luego de realizar el mezclado de los componentes y enfriarlas se procedió inocular los scobys producidos. Antes de inocular los scobys se hizo orear, luego se determinó el peso y espesor de cada scobys para su respectivo tratamiento. Finalmente se procedió inocular los 15 scobys de *Manchurian fungus*, previo a ello se midió la temperatura, °Brix y pH inicial.

Fermentado: la fermentación se realizó en recipientes rectangulares de acero inoxidable AISI 304 con capacidad de 1,5 L, las cuales fueron tapadas con telas transparentes para impedir la contaminación y para la mejorar la oxigenación. Para el proceso de biosíntesis de los 15 tratamientos se acondicionó en la cámara de incubación a 28 - 30°C. La fermentación de cada tratamiento se realizó durante 28 días, verificados por cada 7 días.

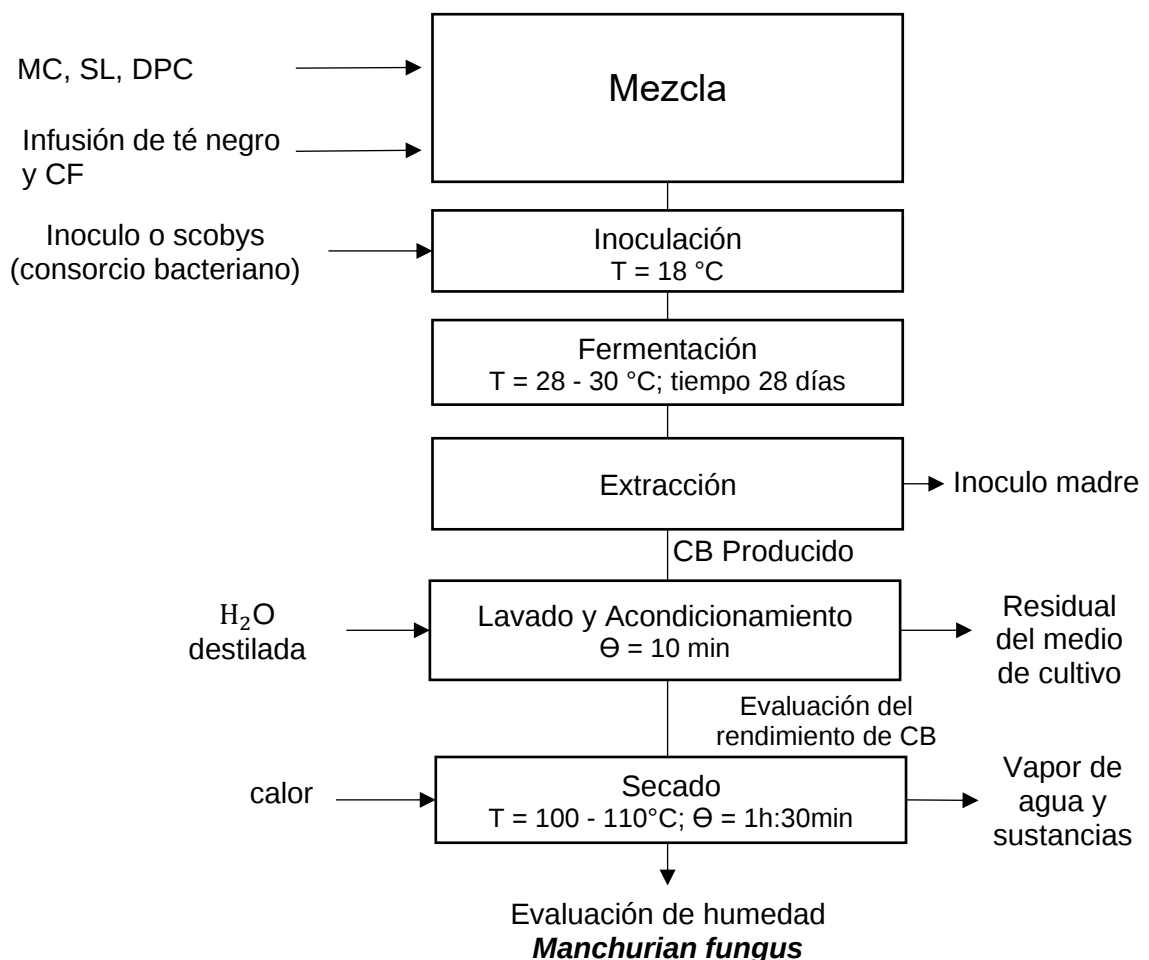
Extracción: al finalizar el tiempo establecido de fermentación de cada tratamiento se procedió a retirar las muestras de *Manchurian fungus* producidos y scobys madre, de forma manual del medio cultivo, utilizando guantes quirúrgicos. Después de retirar se procedió medir los parámetros finales como el °Brix, el pH, peso de sustrato final y peso de biomasa producido.

Lavado y acondicionamiento: el lavado se hizo con agua destilada durante 20 minutos para eliminar los restos impureza de la biomasa. Luego se acondicionó para ser aireado.

secado: la biomasa de *Manchurian fungus* limpio oreado se procedió secar en balanza PCE – MB 50 por un promedio de 1 hora con 27 minutos a 100 - 110 °C, para poder determinar el porcentaje materia seca y humedad.

Figura 17

Diagrama de flujo del proceso de obtención de Manchurian fungus



I. Evaluación de producto terminado.

- **Determinación de rendimiento de la producción de celulosa bacteriana.**

Para determinar el rendimiento por el efecto del medio cultivo, se utilizó la siguiente ecuación (Gomes et al., 2013 citado por Sanabria O. et al., 2021, p3)

$$\text{Rendimiento de producción de BC (\%)} = \frac{\left(\frac{mCB}{V}\right)}{Si - Sf} * 100$$

Donde:

mCB : es la cantidad de CB producida (g)
V : es el volumen de reacción (L)
Si : es la concentración inicial del sustrato (g/L)
Sf : es la concentración final del sustrato (g/L)

- **Determinación de tasa de producción de celulosa bacteriana.**

Para determinar tasa de producción de celulosa bacteriana, se utilizó la siguiente ecuación (Gomes et al., 2013 citado por Sanabria O. et al., 2021, p3)

$$\text{Tasa de producción de BC} \left(\frac{g}{L * h}\right) = \frac{(mCB)}{V * t}$$

Donde: **mCB** es la cantidad de CB producida (g); **V** es el volumen de reacción (L) y **t** es el tiempo de cultivo (horas).

- **Determinación de tasa de conversión del sustrato.**

$$\text{Tasa de conversión de sustrato (\%)} = \frac{Si - Sf}{Si} * 100$$

Donde: **Si** es la concentración inicial del sustrato (g/L) y **Sf** es la concentración final del sustrato (g/L). (Gomes et al., 2013 citado por Sanabria O. et al., 2021, p3)

- **Determinación de humedad en base húmeda y seca.**

Para determinar el porcentaje de humedad en base seca y húmeda se utilizó las siguientes ecuaciones:

- $\% \text{ Humedad (b. h)} = \frac{(P_i - P_f)}{P_i} * 100$
- $\% \text{ materia seca} = 100 - \% \text{ Humedad}$
- $\% \text{ Humedad (b. s)} = \frac{\% \text{ Humedad}}{\% \text{ materia seca}} * 100$

Donde: P_i es el peso inicial de la muestra húmeda y P_f es el peso final de la muestra seca.

3.6. TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

3.6.1. Técnicas de procesamiento

Cada variable independiente tuvo diferentes proporciones para la formulación del medio cultivo, para observar el mejor rendimiento de la producción de la celulosa bacteriana, con los datos obtenidos se hizo un procesamiento de datos utilizando los siguientes softwares:

Minitab: utiliza un diseño estadístico de mezclas/ Diseño Simplex Centroide, en donde procesa los datos de las proporciones de cada medio cultivo en función a una unidad o 100 %; este software pues nos ayudó a predecir las proporciones adecuadas para mejor producción de celulosa bacteriana.

Excel: es una herramienta de cálculos, donde se procesó los datos experimentales obtenidos, asimismo datos arrojados por el software Minitab.

3.6.2. Análisis de datos

El análisis de datos se realizó mediante las gráficas como:

- **Gráficas analíticas:** con las gráficas analíticas se pudo verificar la influencia de las variables independientes sobre las variables dependientes, con ello se contrastó el problema planteado de la investigación.
- **Gráficas de Diseño Simplex Centroide:** con las gráficas del diseño se pudo verificar la optimización en el rendimiento de la producción de la celulosa bacteriana y las influencias de las proporciones puras, binarias, ternarias y cuaternarias.

3.7. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

A. Materia prima e insumos

- 800 g mucílago de cacao de variedad CCN-51, VRAE-99
- 800 g litros suero de leche
- 800 g de cascara seca de café Catimor, Geisha.
- 525 g té negro
- 800 g de concentrado de piña Golden
- 15 scobis o inóculos de *Manchurian fungus*

B. Equipos

Los equipos que se utilizaron en la presente investigación son:

- 1 refractómetro ATC °Brix 80
- 1 balanza analítica de capacidad de 2kg
- 1 pH metro digital
- 1 termómetro digital para medir líquidos 0 – 300 °C
- 1 termómetro digital HTC-2 para medir el ambiente de cámara de incubación.
- 1 balanza analítica PCE – MB 50 para medir la humedad

C. Materiales

- 15 recipientes rectangulares de acero inoxidable de 36x27x4,8 cm.
- Cocina eléctrica de 220 V
- Olla eléctrica multifuncional de capacidad de 5 L
- 5 vaso precipitado de 250 mL
- Vernier marca Tesa de serie 005 de 15cm
- 2 espátulas
- Vernier de 15cm
- 1 probeta de 1 L
- 1 probeta de 250 mL
- 1Varilla de vidrio
- Telas de filtro 0,1 mm
- 2 focos incandescentes de 100 watts

D. Reactivos

- 6,825 litros de agua destilada
- 2 capsulas Lactozyn

E. Otros

- Ollas de 5 L
- Baldes de 20 L
- Una jarra de 2,5 Litros
- 1 tinas 3 L
- 1 cuchillo
- Bolsas con cierre hermético de capacidad de 1 kg
- 1 escúter Olfa L1 18 mm
- 1 tijera marca Snavida
- Clavo de ½ pulg.; 0,5 pulg.
- Martillo marca Truper
- 1 flexómetro Fatmax de 30 m y 16 mm
- Plásticos de doble cara
- Ligas de 2 cm de ancho
- Triplay de madera
- Liatones de madera
- Cable mellizo de fluido eléctrico número 18
- Interruptores encendidos/apagado

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. RENDIMIENTO DE LA CELULOSA BACTERIANA

La Tabla 19 presenta el rendimiento de la celulosa bacteriana bajo distintos tratamientos, diferenciados por la presencia y concentración de cuatro nutrientes clave: mucílago de cacao, suero de leche, descartes de piña en concentrado y cáscara seca de café. La variable dependiente, el rendimiento de biomasa, se cuantifica en gramos de biomasa por gramo de sustrato, proporcionando una medida precisa de la eficiencia de cada tratamiento.

Efecto del suero de leche:

El suero de leche tiene un efecto significativo en el rendimiento de la celulosa bacteriana, los tratamientos con suero de leche (T2, T5, T8, T9, T11, T12, T1 y T15) tienen un rendimiento mayor que los tratamientos sin suero de leche (T1, T3, T4, T6 T7, T10 y T13), El rendimiento máximo se observa en el tratamiento T9, con un valor de 71 g de biomasa por gramo de sustrato, según (Gutierrez Sosa & Quispe Flores, 2022), en su investigación también tuvo como efecto significativo el suero de leche en el rendimiento de la celulosa bacteriana utilizando una mezcla de 100 g de mucilago de cacao, 100 g de suero de leche y 0 g de azúcar, como resultado obtuvo con mejores característica físicas pero a mayor tiempo. Pues el presente estudio realizado concuerda con las investigaciones realizadas.

Ya que el suero de leche contiene nutrientes como proteínas, aminoácidos y azúcares de fácil asimilación, lo que podría favorecer la producción de celulosa bacteriana. Sin embargo, no se han encontrado investigaciones específicas que comparen el rendimiento de celulosa bacteriana con y sin suero de leche en los tratamientos mencionados.

Por otro lado, en su investigación de (Velásquez Ccosi & Peña Rojas, 2024), utilizando 15 % de sacarosa, 5 % mucilago y 0 % de suero de leche obtuvo 30,08 g de biomasa / g sustrato; al comparar con los resultados de la presente investigación una diferencia muy notoria en el rendimiento de celulosa bacteriana, de acuerdo a los resultados se llega concluir que la utilización del suero de leche tiene un efecto muy significativo en rendimiento de la celulosa bacteriana.

Efecto de los descartes de piña en concentrado:

Los descartes de piña en concentrado también muestran un efecto significativo en el rendimiento de la celulosa bacteriana. Los tratamientos que incluyen piña en concentrado (T3, T6, T8, T10, T11, T13, T14 y T15) presentan un rendimiento significativamente mayor en comparación con aquellos sin este componente (T1, T2, T4, T5, T7, T9 y T12). El rendimiento máximo se observa en el tratamiento T10, con un valor de 61 g de biomasa por gramo de sustrato. (Soriano & Barreto, 2018) en su investigación llegó a obtener un rendimiento 12,02 g de celulosa bacteriana / L de sustrato, utilizando pulpa de piña cruda en un tiempo de 14 días. Sin embargo, al conferir el resultado con la investigación de Soriano & Barreto muestra una diferencia significativa, ya que en esta investigación la piña se incorporó en forma concentrado la cual tuvo mayor efecto significativo en el rendimiento de la celulosa bacteriana.

Efecto del café en polvo:

El café en polvo nos demuestra un efecto significativo en el rendimiento de la celulosa bacteriana. Los tratamientos que incluyen café en polvo (T4, T7, T9, T10, T12, T13, T14 y T15) presentan un rendimiento comparable a aquellos tratamientos que no lo incluyen (T1, T2, T3, T5, T6, T8 y T11). También concordamos con la investigación de (Merchán Sornoza & Tigre Chango, 2019) donde utilizó como fuente de nitrógeno la cascara de café en forma de infusión; como resultado obtuvo la mayor producción de la celulosa bacteriana con 10 % de azúcar, con sustitución del 75 % de la infusión de cascara de café, dando como rendimiento quincenal de 25 % producción con mejores propiedades de dureza y estructura firme. Pues, en conclusión, la cascara seca de café tiene un efecto significativo en el rendimiento de la celulosa bacteria. Para ver la influencia en la producción de CB con más detalle se debe realizar pruebas con diferentes porcentajes de cascara de café en medio cultivo, ya que hay escasas investigaciones sobre el efecto de dicho componente.

Tabla 19*Rendimiento de celulosa bacteriana bajo distintos tratamientos*

N° Tratamientos	Variables Independientes				Componentes constantes		Variable dependiente
	30%				5%	65%	
	Mucilago de cacao (g)	suero de leche (g)	Descartes de piña en concentrado (g)	cascara seco de café (g)	té negro (g)	agua (g)	Rendimiento de CB (g biomasa/g sustrato) %
	MC	SL	DPC	CF			
T1	210	0	0	0	35	455	32
T2	0	210	0	0	35	455	30
T3	0	0	210	0	35	455	45
T4	0	0	0	210	35	455	46
T5	105	105	0	0	35	455	26
T6	105	0	105	0	35	455	38
T7	105	0	0	105	35	455	37
T8	0	105	105	0	35	455	27
T9	0	105	0	105	35	455	71
T10	0	0	105	105	35	455	61
T11	70	70	70	0	35	455	44
T12	70	70	0	70	35	455	35
T13	70	0	70	70	35	455	34
T14	0	70	70	70	35	455	35
T15	52,5	52,5	52,5	52,5	35	455	37

Efecto de los factores en el rendimiento de biomasa

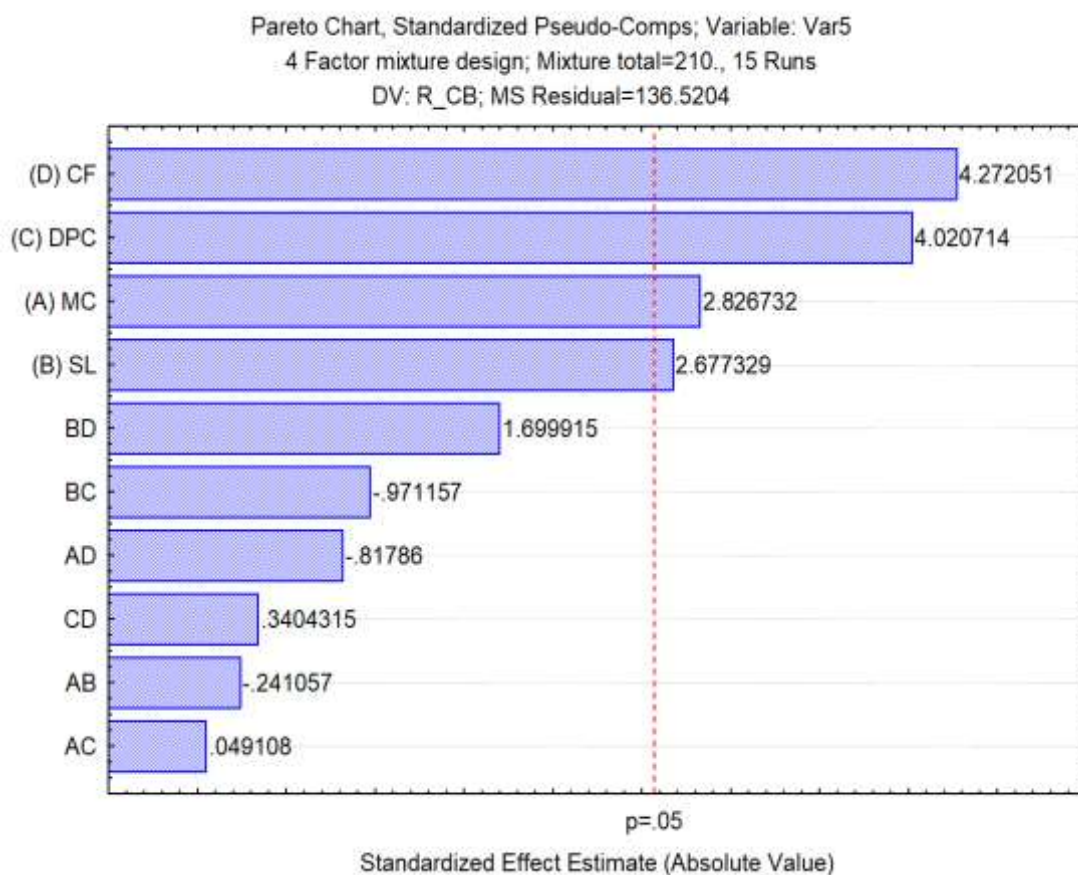
La figura 18 presenta el efecto estandarizado de cada factor (mucílago de cacao - MC, suero de leche - SL, descarte de piña en concentrado - DPC y cáscara de café - CF) en el rendimiento de *Manchurian fungus* (g de biomasa/g de sustrato) en un diseño de mezcla de cuatro factores. Las barras del gráfico representan el efecto estandarizado de cada factor, ordenadas de mayor a menor efecto. La barra más alta indica el factor con mayor impacto y la más baja, el de menor efecto. La línea de

Pareto, también conocida como línea acumulada, muestra el porcentaje acumulado del efecto total de los factores.

Los factores CF (D), DPC (C), MC (A) y SL (B) exhiben un efecto positivo en la variable de respuesta. El factor CF (D) presenta el mayor efecto positivo, con un valor estandarizado de 4,272. Los factores DPC (C), MC (A) y SL (B) muestran efectos positivos similares, con valores estandarizados de 4,021, 2,827 y 2,677, respectivamente. Por otro lado, el factor BD y CD presentan un efecto positivo en la variable de respuesta, con un valor estandarizado de 1,699 y 0,3404 respectivamente.

Figura 18

Efecto estandarizado de los factores en estudio



Optimización por Función de Deseabilidad

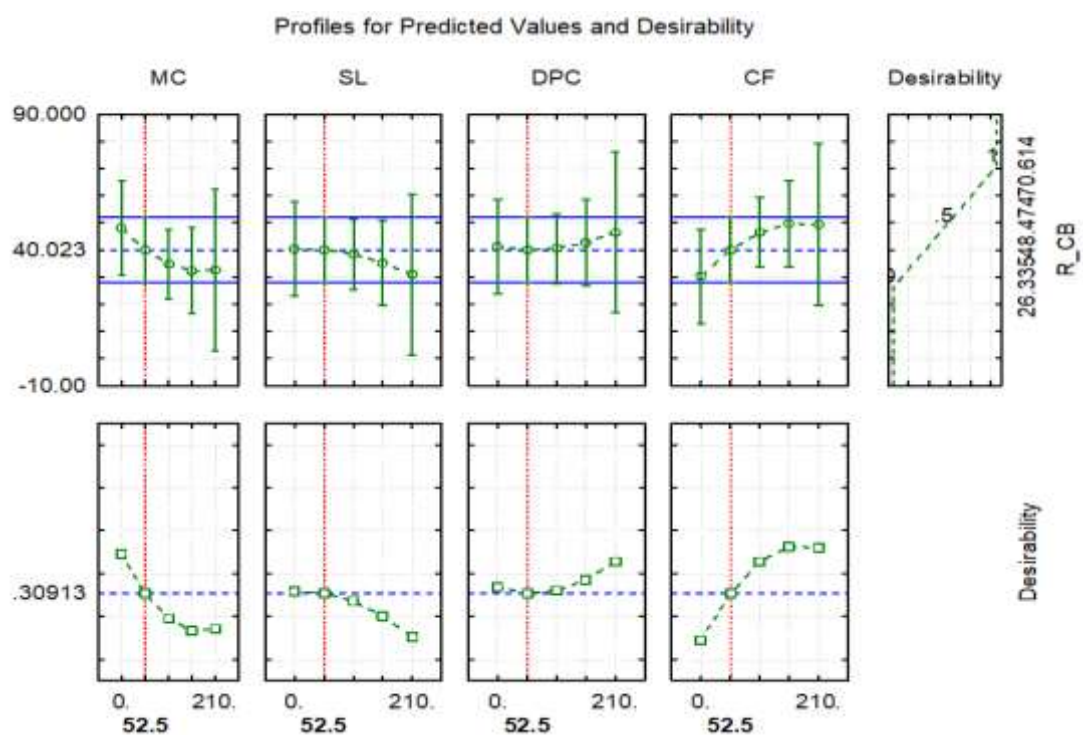
La Figura 19 ilustra la tendencia de las variables de respuesta en función de las variaciones en los factores MC, SL, DPC y CF. En términos generales, se observa

un aumento de la variable de respuesta con el incremento de DPC y CF, mientras que un aumento en MC y SL tiende a disminuir los valores de la variable de respuesta. Los puntos de intersección destacan los valores de los factores que cumplen con los criterios tanto de predicción como de deseabilidad. Las regiones situadas por encima de la línea de deseabilidad son las más favorables, ya que indican valores de los factores que llevan a una mayor deseabilidad.

Los valores porcentuales de cada componente que optimizan el rendimiento de celulosa (40,02 g de biomasa / g de sustrato) por FD son los siguientes: 52,5% de MC, 52,5% de SL, 52,5% de DPC y 52,5% de CF (Figura 19). Estos valores pertenecen a los rangos determinados por Diseño Simplex Centroide (DSC), garantizan un rendimiento de celulosa bacteriana alto. La utilización de los valores determinados por DSC que optimizan el rendimiento de celulosa bacteriana van a depender de la escala productiva, ya que por ejemplo generalmente en la industria se prefiere usar valores exactos para agilizar los procesos. (Panchana & Soto, 2017), en su trabajo demostró la optimización máxima del rendimiento de CB en 14,83 % utilizando 73,90 % de lixiviado de cacao, 24,56 % de té de Kombucha y 1,54 % de levadura de cerveza, esto nos indica que sí se puede optimizar al máximo la producción de CB utilizando mucilago de cacao como fuentes de carbono.

Figura 19

Optimización del rendimiento de celulosa bacteriana



CONCLUSIONES

- Se desarrolló y se analizó 15 formulaciones distintas utilizando combinaciones de subproductos agroindustriales como sustratos. Incluyendo mucílago de cacao, suero de leche, concentrado de descartes de piña y cáscara seca de café, en proporciones que variaron de 0 a 210 g por formulación. Estos sustratos constituyeron el 30% de la mezcla total en cada formulación, permitiendo una evaluación sistemática de su impacto en el rendimiento de la celulosa bacteriana.
- Este estudio ha demostrado que la composición del sustrato tiene un impacto significativo en el rendimiento de la producción de celulosa bacteriana. Los resultados más prometedores se obtuvieron con dos mezclas específicas de sustratos. El tratamiento T9, compuesto por 105 g de cáscara de café seco y 105 g de suero de leche, resultó ser el más eficiente, generando un rendimiento de 71 g de celulosa bacteriana por gramo de sustrato. El segundo mejor rendimiento se logró con el tratamiento T10, que consistió en 105 g de descarte de piña concentrado y 105 g de cáscara de café seco, produciendo 61 g de celulosa bacteriana por gramo de sustrato.
- Se observó que las proporciones binarias resultaron en el mayor rendimiento, con una producción promedio de 43 g de celulosa bacteriana por g de sustrato. Las proporciones puras mostraron un rendimiento ligeramente inferior, con 38 g de celulosa bacteriana por g de sustrato. Por otro lado, tanto las proporciones ternarias como las cuaternarias presentaron rendimientos idénticos de 37g de celulosa bacteriana por gramos de sustrato.
- La aplicación del Diseño de Mezclas Simplex-Centroide en conjunto con la Función de Deseabilidad (FD) demostró ser una metodología altamente eficaz para la optimización de proporciones cuaternarias en la producción de celulosa bacteriana. Esta estrategia permitió maximizar el rendimiento, alcanzando una producción de 40,02 g de biomasa por gramo de sustrato. Los resultados óptimos se obtuvieron utilizando una composición equilibrada de cuatro sustratos: mucílago de cacao (MC), suero de leche (SL), descartes de piña en concentrado (DPC) y cáscara seca de café (CF), cada uno en una proporción del 52,5%.

RECOMENDACIONES

- Dado que el efecto de las proporciones cuaternarias fue significativo en la producción de kombucha utilizando el Diseño de Mezclas Simplex Centroide, se sugiere implementar este enfoque en la producción industrial de kombucha. Esto permitirá maximizar la eficiencia y la calidad del producto final. Se recomienda realizar estudios adicionales para determinar las proporciones óptimas específicas para diferentes cepas y condiciones de cultivo de kombucha.
- Antes de implementar estos hallazgos a gran escala, se deben realizar pruebas piloto para validar los resultados en un entorno industrial. Es esencial asegurar que las proporciones optimizadas mantengan su efectividad en condiciones de producción masiva, ajustando los parámetros según sea necesario para mantener la consistencia y calidad del producto.
- Implementar un sistema de monitoreo continuo para evaluar el rendimiento de la celulosa bacteriana y la producción de Kombucha en tiempo real. Esto permitirá realizar ajustes rápidos en las proporciones y otros parámetros del proceso para mantener niveles óptimos de producción y calidad.
- Asimismo, realizar nuevas formulaciones del medio de cultivo para ver la influencia sobre el rendimiento de producción de la celulosa bacteriana, utilizando los residuos agroindustriales provenientes de VRAEM en menores porcentajes de lo investigado en este trabajo.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Agualonga, L., Aucatoma, D., Sagnay, D., Santilla, N., & Jácome, C. (2022). El suero de leche, subproducto de la industria de queso: Composición, recuperación de proteínas y aplicaciones. *Journal of Agro-Industry Sciences*, 6. doi:<https://doi.org/10.17268/jais.2022.002>
- Calderon Toledo, S. v. (2022). *Producción de celulosa por Komagataeibacter sp. SU12 usando extracto de Mangifera indica (mango) para su potencial aplicación biotecnológica [Tesis para optar el Grado Académico de Magíster en Biotecnología, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]*. Obtenido de <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/17780>
- Carreño Pineda, L., Caicedo Mesa, L., & Martinez Riascos, C. (2012). *Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión. Ingeniería y Ciencias*. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-91652012000200012
- Cerda Mejía, L., & Dávalos Cerrón, P. (2022). *Aislamiento y caracterización de cepas nativas de Komagataeibacter xylinus y comparación de su crecimiento en diferentes sustratos [Tesis para optar Título Profesional, Universidad Técnica de Ambato]*. En *Repositorio de la Universidad Técnica de Ambato*. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/34967>
- Chavez Pacheco, J. L., Martinez Yee, S., Contreras Centella, M., & Escamilla Marvan, E. (2004). Celulosa Bacteriana en Gluconacetobacter Xylinum: Biosíntesis y Aplicaciones. *Ciencias Químico-Biológicas*, 24. Recuperado el 10 de octubre de 2024, de <http://repositorio.pediatrica.gob.mx:8180/handle/20.500.12103/3137>
- Cruz, C. (2014). *Desarrollo de nanocompuestos basados en celulosa bacteriana para aplicaciones biomédicas. Universidad de Valencia*. Obtenido de [https://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/43022/Tesis doctoral Cristian Grande definitiva.pdf?sequence=1](https://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/43022/Tesis%20doctoral%20Cristian%20Grande%20definitiva.pdf?sequence=1)

- Delgado Murillo, J. (2008). *Optimizacion de la formulacion y elaboracion de salsa de tomate picante mediante diseño experimental de mezcla y variable de proceso*. Recuperado el 10 de octubre de 2023, de <http://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/7682>
- DEVIDA. (8 de Junio de 2022). *Vraem, Productores inician la cosecha selectiva de mil toneladas de cacao*. Recuperado el 30 de Junio de 2022, de <https://www.gob.pe/institucion/devida/noticias/616082-vraem-productores-inician-la-cosecha-selectiva-de-mil-toneladas-de-cacao>
- DEVIDA, V. (2022). *Vraem, Productores inician la cosecha selectiva de mil toneladas de cacao*. Obtenido de DEVIDA Gob.Pe.: <https://www.gob.pe/institucion/devida/noticias/616082-vraem-productores-inician-la-cosecha-selectiva-de-mil-toneladas-de-cacao>
- Guerrero, H. (2022). *Uso del mucílagonde cacao en el manejo del musgo (Rigodium implexum) afectando al cultivo*. Universidad . Obtenido de https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/GUERREROORTEGA_HUSSEIN_ABIMAEL.pdf
- Gutierrez Sosa, G., & Quispe Flores, A. (2022). *Evaluación de la producción de celulosa bacteriana Manchurian fungus utilizando mucílago decacao y suero de leche*. Ayacucho, Peru.
- Hernández Sampieri, R., Fernández Collado, C., & Pilar Baptista, M. (2014). *Metodología de la Investigación* (sexta ed.). Obtenido de <https://www.esup.edu.pe/wp-content/uploads/2020/12/2.%20Hernandez,%20Fernandez%20y%20Baptista-Metodolog%C3%ADa%20Investigacion%20Cientifica%206ta%20ed.pdf>
- Humberto, G., & Salazar, R. (2012). *Análisis y diseño de experimentos* (Segunda ed.). Mexico: McGraw Hill México. Obtenido de https://gc.scalahed.com/recursos/files/r161r/w19537w/analisis_y_diseno_experimentos.pdf
- Hurtado, F. P. (2018). *Aprovechamiento y Conservacion del mucilago de tres grupos de cacao (Theobroma cacao L.) para la obtencion de miel, en la finca experimental la represa*. (Q. UTEQ, Ed.) Quevedo, Ecuador. Obtenido de <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/4734>
- INIA. (Noviembre de 2021). *Estudio de Vigilancia Tecnológica en el Cultivo del Cacao*. Recuperado el 30 de junio de 2022, de <https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/1548/1/Estudio%20de>

%20vigilancia%20tecnol%C3%B3gica%20en%20el%20cultivo%20de%20ca
cao.pdf

- ITP. (17 de enero de 2019). *Desarrollan empaques biodegradables con cáscara de tuna y piña*. Recuperado el 30 de junio de 2022, de <https://www.itp.gob.pe/https-www-itp-gob-pe-wp-admin-post-phppost4738actionedit/>
- JNC. (2 de septiembre de 2020). *EL CAFÉ DE PERÚ*. Obtenido de <https://juntadelcafe.org.pe/el-cafe-de-peru/#:~:text=Seg%C3%BAAn%20datos%20de%20la%20USDA,42%20sacos%20de%2060%20kg>
- Lima, H., Nascimento, E., Andrade, F., Brígida, A., Borges, M., Cassales, A., . . . Rosa, M. (2017). Bacterial Cellulose Production by *Komagataeibacter hansenii* ATCC 23769 Using Sisal Juice - An Agroindustry Waste. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, III(34), 671–680. doi:<https://doi.org/10.1590/0104-6632.20170343S20150514>
- Lozada, J. (2014). *Investigación Aplicada: Definición, Propiedad Intelectual e Industria*. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6163749>
- Lozada, J. (2014). *Investigación Aplicada*. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6163749>
- Mahecha, R. (2016). *Aproximación de la cáscara de la piña (Ananás comosus) para el desarrollo de una bebida endulzada con stevia*. Repositorio Universidad de Guayaquil; Universidad de Guayaquil, Facultad de Ingeniería Química. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/14168>
- Merchán Sornoza, J., & Tigre Chango, J. (2019). *Obtención de celulosa bacteriana a base de kombucha por sustitución de té negro por té de cáscara de café [Tesis para optar Título Profesional de Ingeniero Químico, Universidad Nacional Mayo de San Marcos]*. In Repositorio Universidad de Guayaquil. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/45570>
- MINAGRI. (2021). *Corporación Azucarera del Perú S.A.* Obtenido de <https://www.aai.com.pe/wp-content/uploads/2021/05/Coazucar-dic.-2020-vfinal.pdf>
- Palacios Duchicela, R. (2019). *Producción de biofilm a partir de Komagataeibacter xylinus, utilizando diferentes residuos agroindustriales [Tesis para optar Título*

- Profesional, Universidad Técnica de Ambato. Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/29839>
- Panchana, A., & Soto, G. (2017). *Diseño de Mezcla Simplex-Centroide para la Optimización de un Cultivo Productor de Celulosa Bacteriana*. Repositorio Universidad de Guayaquil. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/28033>
- Sadeghian Khalajabadi, S., Mejía Muñoz, B., & Arcila Pulgarín, J. (2014). COMPOSICIÓN ELEMENTAL DE FRUTOS DE CAFÉ Y EXTRACCIÓN DE NUTRIENTES POR LA COSECHA EN LA ONA CAFETERA DE COLOMBIA. *Centro Nacional de Investigaciones de Café, Cenicafé. Chinchiná, Caldas, Colombia*, 253. Obtenido de [https://www.cenicafe.org/es/publications/arc057\(04\)251-261.pdf](https://www.cenicafe.org/es/publications/arc057(04)251-261.pdf)
- Sanabria, O. L., Durán, D., Cabezas, J., & Hernández, I. (8 de septiembre de 2021). Biosíntesis de celulosa utilizando azúcares simples disponibles en el exudado residual de mucílago de cacao. *ELSEVIER*, 10. doi:<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118645>
- Santos de Dios, S. M. (15 de enero de 2015). *Aplicación de la celulosa bacteriana a la restauración del patrimonio bibliográfico y documental en papel*. doi:<https://doi.org/10.20868/UPM.thesis.39035>.
- Soriano, J., & Barreto, M. (2018). *Síntesis y Estudio de Propiedades Celulosa Bacteriana Obtenida de Piña y Banano, Inoculados con kombucha [Tesis par Bacteriana Obtenida de Piña y Banano, Inoculados con kombucha [Tesis par optar Título Profesional, Universidad de Guayaquil]*. . Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/27913>
- Teresita Castañeda, M. (2019). *Estequiometría y cinética del crecimiento microbiano*. Universidad Tecnológica Nacional de La Plata, 27–28. Obtenido de <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/89651>
- Vargas, Y., & Pérez, L. (13 de Marzo de 2018). *APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES PARA EL MEJORAMIENTO DE LA CALIDAD DEL AMBIENTE*. Recuperado el 05 de Julio de 2022, de <https://revistas.unimilitar.edu.co/index.php/rfcb/article/download/3108/2874/#:~:text=Los%20residuos%20agroindustriales%20son%20utilizados,son%20com%C3%BAnmente%20dif%C3%ADciles%20de%20degradar>.
- Velásquez Ccosi, P. F. (2017). *Diseños experimentales aplicados a la ingeniería agroindustrial* (primera ed.). Ayacucho, Perú.

- Velásquez Ccosi, P., & Peña Rojas, G. (10 de setiembre de 2024). Efecto del medio y condiciones de cultivo en el rendimiento y calidad de celulosa para la obtención de cuero biológico. *INGENIERÍA INVESTIGA*, VI. doi:<https://doi.org/10.47796/ing.v6i00.988>
- Vera Chang, J., Vásquez, L., Alvarado Vásquez, K., Coello León, E., Rivadeneira Barcia, C., Intriago Flor, F., . . . Orejuela Hurtado, F. (2023). Caracterización de la miel obtenida del mucilago de tres grupos genéticos de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Bases de La Ciencia*, II(8), 17-30. doi:<https://doi.org/10.33936/revbasdelaciencia.v8i2.5728>

ANEXOS

Anexo 1

Arreglos de la formulación con valores reales

Tabla 20

Arreglos de la formulación con diferentes fuentes de carbono

N° Trat.	Componentes manipulados (g)				Componentes constantes (g)		Mezcla total 100 %
	30%				5%	65%	
	Mucílago de cacao: MC	Suero de leche: SL	Descartes de piña en concentrado: DPC	Cascara seco de café: CF	Té negro	Agua	
T1	210	0	0	0	35	455	700
T2	0	210	0	0	35	455	700
T3	0	0	210	0	35	455	700
T4	0	0	0	210	35	455	700
T5	105	105	0	0	35	455	700
T6	105	0	105	0	35	455	700
T7	105	0	0	105	35	455	700
T8	0	105	105	0	35	455	700
T9	0	105	0	105	35	455	700
T10	0	0	105	105	35	455	700
T11	70	70	70	0	35	455	700
T12	70	70	0	70	35	455	700
T13	70	0	70	70	35	455	700
T14	0	70	70	70	35	455	700
T15	52,5	52,5	52,5	52,5	35	455	700

Anexo 2

Resultados experimentales

Tabla 21

Datos experimentales obtenidos de cada tratamiento durante los 28 días

N° Trat.	Parametros iniciales		Parametros finales (28 días de incubación)		Kombucha inoculado (g)		Kombucha producido (g) a los 28 días		sustrato inicial (g)	sustrato final (g)	Sustrato consumido en la síntesis	Rendimiento de producción de BC (%)	Tasa de conversión del sustrato (%)	Tasa de producción de CB (g/Lh)	Masa de materia seca (g)	Masa de componentes volátiles (g)
	°Brix	pH	°Brix	pH	Biomasa 1 peso (g)	Biomasa 1 espesor (cm)	Biomasa 2 peso (g)	Biomasa 2 espesor (cm)	fuentes carbono	fuentes carbono						
T1	28	3,49	16	2.4	10	0,26	92	0,08	700	294	406	32,3716	58,000	0,4657	12,1072	79,8928
T2	30	5,68	22	5.2	18	0,5	84	0,06	700	299	401	29,9252	57,286	0,4181	11,0544	72,9456
T3	31,5	4,16	10	3,19	9	0,2	161	0,3	700	194	506	45,4545	72,286	1,2350	21,1876	139,8124
T4	9	3,35	6	2.82	12	0,3	123	0,05	700	319	381	46,1192	54,429	0,5738	16,1868	106,8132
T5	27,5	4,25	18	3,98	5	0,2	73	0,07	700	304	396	26,3348	56,571	0,3573	9,6068	63,3932
T6	25	3,65	11	2,9	11	0,3	107	0,1	700	294	406	37,6495	58,000	0,5416	14,0812	92,9188
T7	19	3,47	13	2,97	11	0,45	114	0,15	700	263	437	37,2671	62,429	0,6450	15,0024	98,9976
T8	30,5	4,71	28	4,2	19	1,5	71	0,07	700	324	376	26,9757	53,714	0,3261	9,3436	61,6564
T9	21	4,53	21	4,15	11	0,4	260	0,22	700	174	526	70,6138	75,143	2,2236	34,2160	225,7840
T10	20	3,62	11	2,94	12	0,3	245	0,3	700	130	570	61,4035	81,429	2,8045	32,2420	212,7580
T11	27,5	4,16	24	3,41	8	0,2	141	0,16	700	241	459	43,8842	65,571	0,8706	18,5556	122,4444
T12	24,5	4,04	17	3,9	16	0,5	101	0,09	700	284	416	34,6841	59,429	0,5292	13,2916	87,7084
T13	22	3,64	16	2,66	16	0,37	98	0,08	700	289	411	34,0633	58,714	0,5046	12,8968	85,1032
T14	23,5	4,17	13	3,72	11	0,3	102	0,6	700	287	413	35,2819	59,000	0,5289	13,4232	88,5768
T15	24,5	3,99	12	4,6	18	0,4	112	0,1	700	269	431	37,1230	61,5714	0,6196	14,7392	97,2608

Anexo 3

Proceso de obtención de mucilago con apariencia a miel



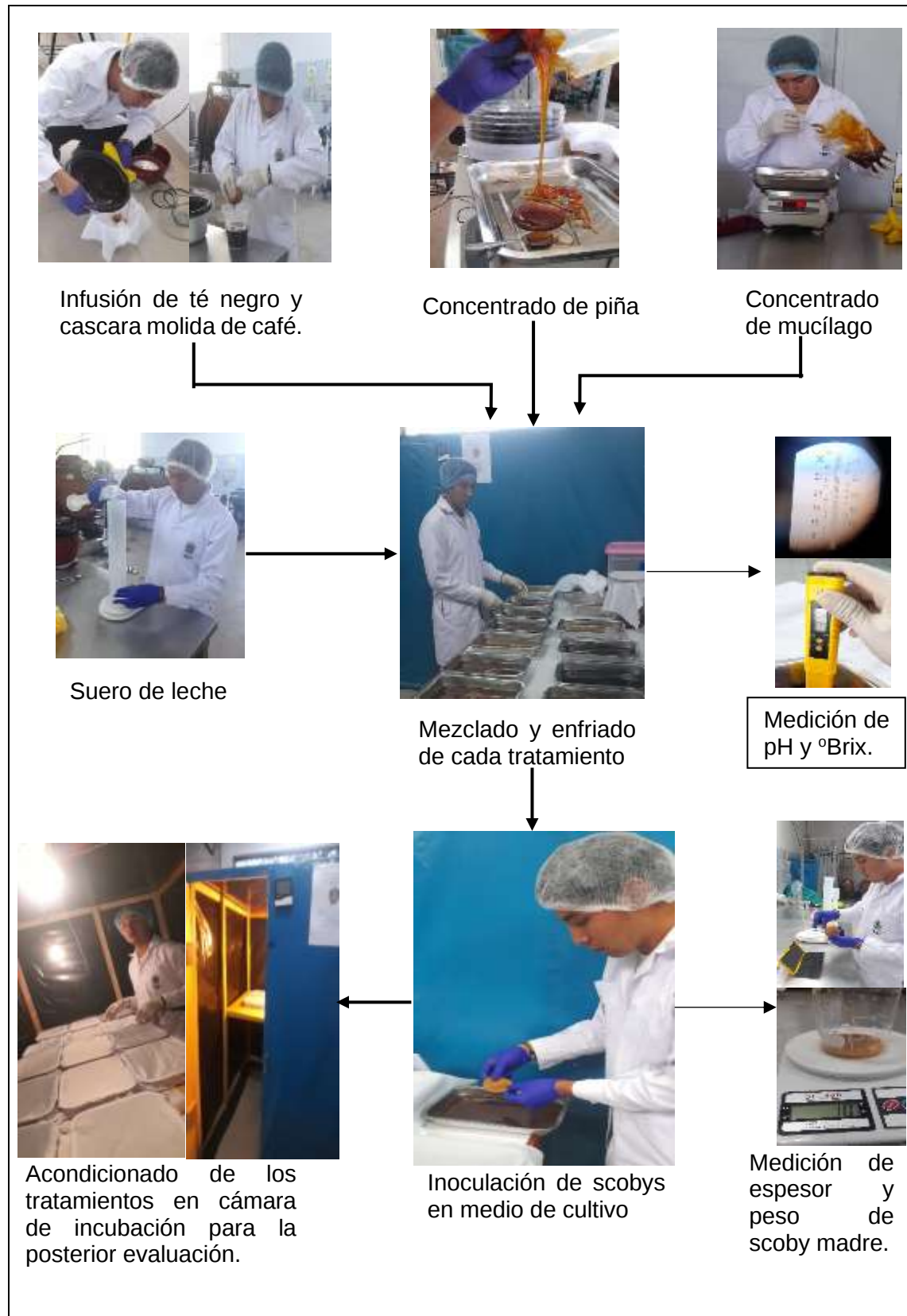
Anexo 4

Proceso de obtención de concentrado de piña con apariencia a miel



Anexo 5

Preparación de medios de cultivo para cada tratamiento e inoculación de scobys



Anexo 6
PRODUCCIÓN DE CELULOSA BACTERIANA A LOS 7 DÍAS EN LOS
DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO

Figura 20

Producción de Manchurian fungus en proporciones puras

 T1: medio de cultivo con mucílago. pH=3,49; °Brix= 28	 T2: medio de cultivo con suero de leche. pH=4,76; °Brix= 29
 T3: medio de cultivo con descartes de piña en concentrado. pH= 3,88; °Brix= 27,5	 T4: medio de cultivo con cascara seco de café. pH=3,35; °Brix= 8

Figura 21

Producción de Manchurian fungus en proporciones binarias

 T5: medio de cultivo con mucílago de cacao y suero de leche. pH=3,85; °Brix= 26	 T6: medio de cultivo con mucílago de cacao y descartes de piña en concentrado. pH=3,33; °Brix= 27,5
 T7: medio de cultivo con mucílago de cacao y cascara seco de café. pH=3,10; °Brix= 20	 T8: medio de cultivo con suero de leche y descartes de piña en concentrado. pH=4,25; °Brix= 26,5
 T9: medio de cultivo con cascara seco de café y suero de leche. pH=3,81; °Brix= 26	 T10: medio de cultivo con cascara seco de café y descartes de piña en concentrado. pH=3,12; °Brix= 20

Figura 22

Producción de Manchurian fungus en proporciones ternarias

 T11: medio de cultivo con mucílago de cacao, suero de leche y descartes de piña en concentrado. pH=3,81; °Brix= 25	 T12: medio de cultivo con mucílago de cacao, suero de leche y cascara seco de café. pH=3,74; °Brix= 24,5
 T13: medio de cultivo con mucílago de cacao, descartes de piña en concentrado y cascara seco de café. pH=3,33; °Brix= 27	 T14: medio de cultivo con descartes de piña en concentrado, suero de leche y cascara seco de café. pH=3,70; °Brix= 24,5

Figura 23

Producción de Manchurian fungus en proporciones cuaternaria

	
T15: medio de cultivo con cascara seco de café, suero de leche, mucilago de cacao y descartes de piña en concentrado. pH=3,76; °Brix= 22,5	

Anexo 7

PRODUCCIÓN DE CELULOSA BACTERIANA A LOS 28 DÍAS EN LOS DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO

Figura 24

Producción de CB en proporciones puras a los 28 días

	
T1: medio de cultivo con mucílago. pH= 2,4; °Brix= 16	T2: medio de cultivo con suero de leche. pH= 5,2; °Brix= 22
	
T3: medio de cultivo con descartes de piña en concentrado. pH= 3,19; °Brix= 10	T4: medio de cultivo con cascara seco de café. pH=2,82; °Brix= 6

Figura 25

Producción de CB en proporciones binarias a los 28 días

 T5: medio de cultivo con mucílago de cacao y suero de leche. pH=3,98; °Brix= 18	 T6: medio de cultivo con mucílago de cacao y descartes de piña en concentrado. pH= 2,9; °Brix= 11
 T7: medio de cultivo con mucílago de cacao y cascara seco de café. pH= 2,97; °Brix= 13	 T8: medio de cultivo con suero de leche y descartes de piña en concentrado. pH= 4,2; °Brix= 28
 T9: medio de cultivo con cascara seco de café y suero de leche. pH= 4,15; °Brix= 21	 T10: medio de cultivo con cascara seco de café y descartes de piña en concentrado. pH= 2,94; °Brix= 11

Figura 26

Producción de CB en proporciones ternarias a los 28 días

	
T11: medio de cultivo con mucílago de cacao, suero de leche y descartes de piña en concentrado. pH= 3,41; °Brix= 24	T12: medio de cultivo con mucílago de cacao, suero de leche y cascara seco de café. pH= 3,9; °Brix= 17
	
T13: medio de cultivo con mucílago de cacao, descartes de piña en concentrado y cascara seco de café. pH= 2,66; °Brix= 16	T14: medio de cultivo con descartes de piña en concentrado, suero de leche y cascara seco de café. pH= 3,72; °Brix= 13

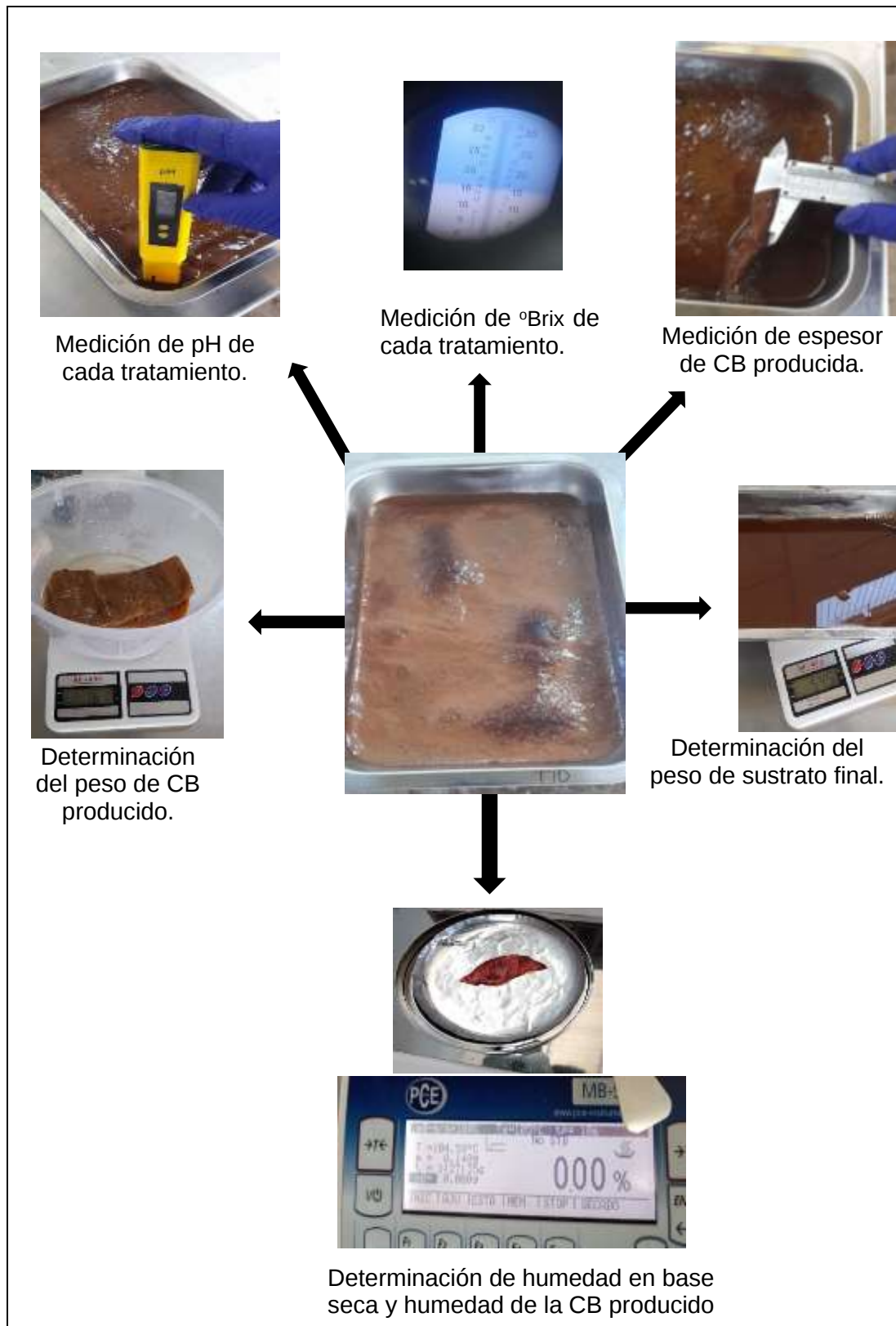
Figura 27

Producción de CB en proporciones cuaternarias a los 28 días

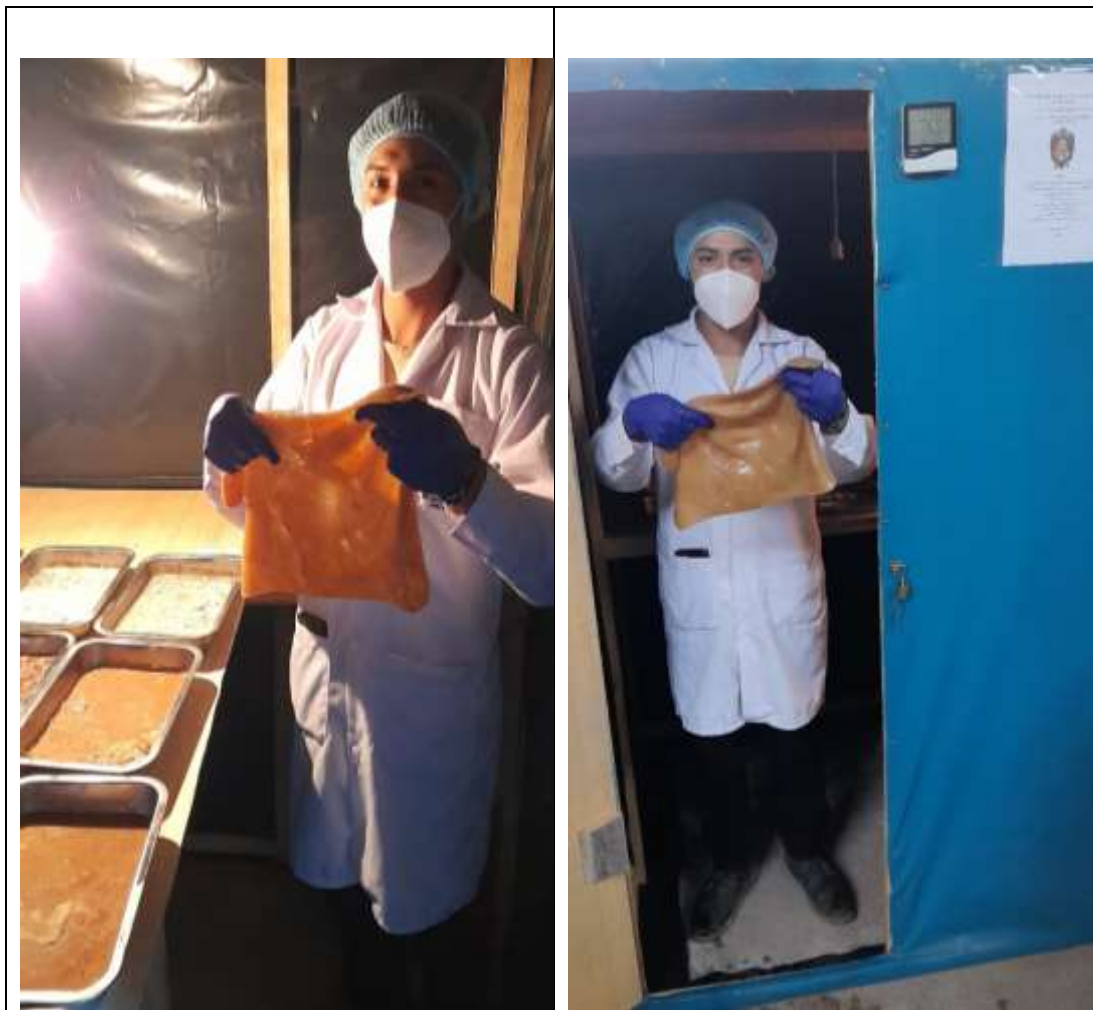

T15: medio de cultivo con cascara seco de café, suero de leche, mucilago de cacao y descartes de piña en concentrado. pH= 4,6; °Brix= 12

Anexo 8

OBTENCIÓN DE DATOS EXPERIMENTALES



Anexo 9
RESULTADO FINAL DE LA PRODUCCIÓN DE CELULOSA BACTERIANA EN
MEDIO DE CULTIVO FAVORABLE



Los mejores resultados que se obtuvo en la producción de celulosa bacteriana es con el tratamiento T9 (suero de leche más cascara seco de café) y T10 (descartes de piña en concentrado más cascara seco de café) como se muestra en la fotografía y los resultados cuantitativos como se observa en el anexo 2.



ACTA DE SUSTENCIÓN DE LA TESIS PRESENCIAL:

Formulación de un sustrato para la producción de Kombucha (*Manchurian fungus*) a partir de residuos agroindustriales provenientes del VRAEM

Expositor: Roberth Jhonatan Torres Bautista
Bachiller en Ingeniería Agroindustrial

Expediente N° 2452618

Resolución Decanal N° 204-2024-UNSCH-FIQM/D

Fecha: 02-10-2024

En la Sala de Conferencia “Pedro Villena Hidalgo” de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia, ubicada en la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (H-121), siendo las diez de la mañana con cinco minutos del día viernes cuatro de octubre del año dos mil veinticuatro, se reunieron el Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **Roberth Jhonatan Torres Bautista**, los Docentes Miembros del Jurado de Sustentación Ingenieros: Dr. Saúl Ricardo CHUQUI DIESTRA, Mg. Cronwell Eduardo ALARCON MUNDACA y Mg. Julio Pablo GODENZI VARGAS, bajo la Presidencia del Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA (Decano de la Facultad), Mg. Percy Fermín VELASQUEZ CCOSI (Docente Asesor de la Tesis) y Leidy Diana MEDINA QUIQUIN (Coasesora), el Mg. Fredy Rober PARIONA ESCALANTE (Secretario-Docente).

Acto seguido, el Presidente del Jurado de Sustentación dispuso que el Secretario Docente dé lectura a los antecedentes tramitados para el presente Acto Público de Sustentación de la Tesis: **Formulación de un sustrato para la producción de Kombucha (*Manchurian fungus*) a partir de residuos agroindustriales provenientes del VRAEM**, presentado por el Bachiller **Roberth Jhonatan Torres Bautista**. A continuación, el Secretario-Docente procedió a dar lectura a la Resolución Decanal N° 204-2024-UNSCH-FIQM/D.

Luego, el Presidente del Jurado invitó al Bachiller **Roberth Jhonatan Torres Bautista**, a pasar al estrado y exponer su trabajo de Tesis en un tiempo máximo de treinta y cinco minutos.

Finalizado la exposición del Bachiller, el presidente invitó a los Señores Miembros del Jurado de Sustentación a que formulen sus preguntas y señalen sus observaciones, en el siguiente orden: Mg. Julio Pablo GODENZI VARGAS, Mg. Cronwell Eduardo ALARCON MUNDACA y Dr. Saúl Ricardo CHUQUI DIESTRA. Luego el Presidente invitó al Mg. Percy Fermín VELASQUEZ CCOSI para que, en su condición de Docente Asesor, se sirva levantar las observaciones del Jurado y efectuar las aclaraciones que considere conveniente.

A continuación, el presidente del jurado invito al sustentante y al público para que se sirva abandonar la sala de conferencia con la finalidad de permitir al jurado de sustentación deliberar sobre la evaluación a otorgar. Se alcanzó el siguiente resultado. **APROBADO POR UNANIMIDAD PROMEDIO QUINCE (15).**

**UNSCH**FACULTAD DE INGENIERÍA
QUÍMICA Y
METALURGIA**ACTA DE SUSTENCIÓN DE LA TESIS PRESENCIAL:****Formulación de un sustrato para la producción de Kombucha (*Manchurian fungus*) a partir de residuos agroindustriales provenientes del VRAEM****Expositor: Roberth Jhonatan Torres Bautista**
Bachiller en Ingeniería Agroindustrial

Expediente N° 2452618

Resolución Decanal N° 204-2024-UNSCH-FIQM/D

Fecha: 02-10-2024

Finalmente, el Presidente del Jurado dispuso que se invite al Sustentante y al público asistente a que se sirvan ingresar a la sala de conferencias y anunció que, el Bachiller **Roberth Jhonatan Torres Bautista**, ha resultado **APROBADO POR UNANIMIDAD**, y por lo tanto a partir de la fecha la Universidad y la Facultad cuenta con un flamante **INGENIERO AGROINDUSTRIAL** y le augura éxitos en su desempeño profesional.

Siendo las once de la mañana con cuarenta minutos se dio por finalizado este acto académico de Sustentación de Tesis. En fe de lo cual firmamos:


.....
Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA
Presidente
.....
Dr. Saúl Ricardo CHUQUI DIESTRA
Miembro
.....
Mg Cronwell Eduardo ALARCON MUNDACA
Miembro
.....
Mg. Julio Pablo GODENZI VARGAS
Miembro
.....
Mg. Fredy Rober PARIONA ESCALANTE
(Secretario Docente)

**UNSCH****FACULTAD DE
INGENIERIA QUÍMICA
Y METALURGIA**ESCUELA PROFESIONAL DE
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

La Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, emite la siguiente:

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

Que, el egresado de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial ha remitido, con el aval y por intermedio de su asesor de Tesis MSc. Percy Fermín VELASQUEZ CCOSI se procedió a la evaluación de originalidad del archivo adjunto con el TURNITIN - UNSCH, **de acuerdo a los criterios establecidos en el Reglamento de Originalidad de Trabajos de Investigación de la UNSCH, aprobado con Resolución del Consejo Universitario N° 039-2021-UNSCH-CU**; cuyos resultados son:

Tesis Formulación de un sustrato para la producción de kombucha (Manchurian fungus) a partir de residuos agroindustriales provenientes del VRAEM

Nombre y Apellido : Bach. **Robert Jhonatan Torres Bautista**
Identificador de entrega : 2495907883
Fecha : 24-oct-2024 10:10a.m. (UTC-0500)
Archivo : TESIS_-ROBERTH_JHONATAN_TORES_BAUTISTA-_2024-sin_turniti.pdf (1.58M)

Se expide la presente constancia de originalidad, con reporte del 15 % de ÍNDICE DE SIMILITUD realizado con Depósito de trabajos estándar, a fin de proseguir con los trámites pertinentes; cabe señalar que los documentos del procedimiento se archivan en el repositorio documental de la Escuela.

Ayacucho, 25 de octubre del 2024

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL
DE HUAMANGA
C.P. INGENIERIA AGROINDUSTRIAL


Ing. Percy Fermín Velasquez Ccosi
DIRECTOR

C.c.
Const. N°18-2024
Archivo

ESCUELA PROFESIONAL DE
INGENIERA AGROINDUSTRIAL
Av. Independencia S/N - Ayacucho
Telf. 066-303496
Correo: ep.agroindustrial@unsch.edu.pe

Formulación de un sustrato para la producción de kombucha (Manchurian fungus) a partir de residuos agroindustriales provenientes del VRAEM

por Roberth Jhonatan Torres Bautista

Fecha de entrega: 24-oct-2024 10:10a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2495907883

Nombre del archivo: TESIS_-_ROBERTH_JHONATAN_TORES_BAUTISTA-_2024-sin_turniti.pdf (1.58M)

Total de palabras: 19664

Total de caracteres: 104982

Formulación de un sustrato para la producción de kombucha (Manchurian fungus) a partir de residuos agroindustriales provenientes del VRAEM

INFORME DE ORIGINALIDAD

15%

INDICE DE SIMILITUD

13%

FUENTES DE INTERNET

3%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.ug.edu.ec Fuente de Internet	4%
2	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	3%
3	repositorio.uta.edu.ec Fuente de Internet	1%
4	revistas.upt.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	recursosbiblio.url.edu.gt Fuente de Internet	1%
6	Submitted to Universidad Industrial de Santander UIS Trabajo del estudiante	<1%
7	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1%
8	www.redunia.org	

Fuente de Internet

<1 %

9

revistas.utm.edu.ec

Fuente de Internet

<1 %

10

stackoverflow.com

Fuente de Internet

<1 %

11

dspace.esPOCH.edu.ec

Fuente de Internet

<1 %

12

acikbilim.yok.gov.tr

Fuente de Internet

<1 %

13

dokumen.pub

Fuente de Internet

<1 %

14

Raúl Siche, Víctor Aredo, Lía Velásquez, Israel Castillo. "El Diseño Simplex-Centroide y la Función de Deseabilidad en la optimización de la aceptabilidad sensorial de pan dulce enriquecido con *Chenopodium quinoa*", Enfoque UTE, 2016

Publicación

<1 %

15

oa.upm.es

Fuente de Internet

<1 %

16

repositorio.uan.edu.co

Fuente de Internet

<1 %

17

vdocuments.com.br

Fuente de Internet

<1 %

18	repositorio.unh.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
19	docplayer.es Fuente de Internet	<1 %
20	intra.uigv.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
21	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
22	Zamora Rodriguez, Maria del Rosario. "Perspectivas sobre los aspectos institucionales para el fortalecimiento de la participacion del Peru como oferente de la Cooperacion Sur-Sur.", Pontificia Universidad Catolica del Peru - CENTRUM Catolica (Peru), 2020 Publicación	<1 %
23	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1 %
24	1library.co Fuente de Internet	<1 %
25	repositorio.uancv.edu.pe Fuente de Internet	<1 %

Exclur bibliografia

Activo