

EFEECTO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE FRUCTOSA SOBRE LA PRODUCCIÓN DE CELULOSA BACTERIANA EN CULTIVO ESTÁTICO

EFFECT OF DIFFERENT CONCENTRATIONS OF FRUCTOSE ON BACTERIAL CELLULOSE PRODUCTION IN STATIC CULTURE

JARAMILLO, L. RUBEN^{1*} PhD, PERNA, M. OLGA¹ Ingeniera Química, BENITO-REVOLLO, P. ADRIAN¹, ARRIETA, M. CARLOS¹, ESCAMILLA, M. EDGARDO² PhD.

¹Universidad de Sucre, Facultad de Educación y Ciencias, Programa de Biología, Laboratorio de Investigación en Microbiología (LIM), Grupo de Investigación en Biología de Microorganismos (GIBM), Sincelejo, Colombia. ²Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México

*Correspondencia: ruben.jaramillo@unisucre.edu.co

Recibido: 10-11-2012; Aprobado: 11-03-2012.

Resumen

En la síntesis de celulosa bacteriana se han usado diversas fuentes de carbono, distintas configuraciones de biorreactores y estrategias de cultivo. En este estudio se compara la producción de celulosa bacteriana evaluando el efecto de diferentes concentraciones de fructosa en la producción de celulosa bacteriana (CB) por *Gluconacetobacter xylinus* IFO en un cultivo estático. El estudio se llevó a cabo en biorreactores cilíndricos de 750 ml, con 200 ml de medio que contenían concentraciones iniciales de 1, 5, 10, 15 % p/v de fructosa a pH 5,6. El volumen del inóculo fue el 10% v/v del volumen de medio de cultivo. La síntesis de celulosa se realizó a temperatura ambiente y a distintos tiempos de incubación que iban de 1,5 hasta 28 días, tiempo en el que se determinaron propiedades fisicoquímicas y mecánicas de la celulosa bacteriana, así como también el consumo de fructosa en función del tiempo para las diferentes concentraciones iniciales de fructosa. Los resultados indican que al 10% p/v de fructosa se obtiene el valor más alto para la síntesis de CB en gramos de celulosa húmeda por litro de medio de cultivo y se obtuvo el máximo grosor con una disminución del volumen remanente de cultivo; además, se observó un consumo de fructosa hasta de un 90% de la concentración inicial. La comprensibilidad fue menor a un mayor grosor de la película de celulosa. El pH del medio se mantuvo en una región óptima para la síntesis de la CB.

Palabras claves: celulosa bacteriana, fructosa, *Gluconacetobacter xylinus* IFO,

cultivo estático.

Abstract

In the synthesis of bacterial cellulose have used various carbon sources, various configurations and strategies of bioreactor cultivation. In this study we compared the production of bacterial cellulose evaluating the effect of different concentrations of fructose in the production of bacterial cellulose (BC) by *Gluconacetobacter xylinus* IFO static culture. The study was carried out in bioreactors of 750ml cylinder, 200 ml of medium containing initial concentrations of 1, 5, 10, 15 % p/v of fructose at pH 5.6. The inoculum volume was 10% v / v of culture medium volume. Cellulose synthesis was performed at room temperature and at different incubation times ranging from 1.5 to 28 days, which time is determined on the physicochemical and mechanical properties of bacterial cellulose, as well as fructose consumption versus time for different initial concentrations of fructose. The results indicate that 10% w/v fructose highest value obtained for the synthesis of BC in grams per liter of moist cellulose culture medium and the maximum thickness was obtained with a volume decrease of remnant; furthermore, fructose consumption observed until 90% of the initial concentration. The compressibility was less than a greater thickness of the cellulose film. The medium pH was kept in a region for optimal synthesis of BC.

Keywords: bacterial cellulose, fructose, *Gluconacetobacter xylinus* IFO, static culture.

Introducción

La explotación masiva de los recursos fósiles en el siglo pasado asociado a problemas de contaminación ha elevado en un número considerable las preocupaciones ambientales y económicas; además, es predecible el agotamiento de los recursos fósiles en un futuro. Todas estas razones contribuyen a una transición progresiva hacia la base de una economía de materiales renovables (biomasa) como materia prima para la producción de productos químicos, materiales, combustibles y energía dentro del llamado concepto de biorefinería (CARREIRA *et al.*, 2011). En virtud de este contexto, los polímeros a partir de recursos renovables, como los polisacáridos, proteínas y lignina, entre otros, están ganando considerable y cada vez más atención. La celulosa es uno de los polisacáridos más abundantes y se considera como una fuente inagotable y única de nuevos materiales para un amplio número de aplicaciones en áreas industriales, en biomedicina y en regeneración de piel animal (HUBER *et al.*, 2006; NGUYEN, V., 2008; SEONG *et al.*, 2010).

Aunque la mayor parte de la celulosa disponible en la tierra se produce por las plantas, algunos organismos tales como algas, hongos y bacterias son también capaces de producir una forma extra-celular de celulosa; por ejemplo, algunas bacterias pertenecientes a los géneros *Gluconacetobacter*, *Sarcina* o *Agrobacterium* son capaces de producir un tipo particular de celulosa (CHAVEZ *et al.*, 2005; KERSTER *et al.*, 2006), designado como la celulosa bacteriana (CB). Recientemente, la CB ha recibido mucha atención como un nuevo y funcional material para aplicaciones biomédicas e industriales por su superioridad sobre la celulosa de origen vegetal en la pureza, ya que no está asociada con hemicelulosa y lignina como en las plantas; de igual forma, la CB posee propiedades físicas y químicas carentes en la celulosa procedente de las plantas, como la alta resistencia tensil, alta capacidad de retención de agua, alta cristalinidad, estructura fibrillar ultra-fina, transparencia, biocompatibilidad, biodegradabilidad y moldeabilidad (WEIA B *et al.*, 2011; SHEAD *et al.*, 2009; ISHIHARA *et al.*, 2002; KLEMM *et al.*, 2001).

Gluconacetobacter xylinus (antes *Acetobacter xylinum*) es considerada como el organismo modelo para el estudio de la producción de celulosa bacteriana, debido a su capacidad de producir niveles relativamente altos del homopolisacárido a partir de una amplia gama de fuentes de carbono y nitrógeno en cultivo líquido como glucosa, fructosa, sacarosa, melaza, manosa, glicerol, lactato, citrato, etanol, licor de maíz, extracto de levadura, amonio, hidrolizado de caseína entre otros (MIKKELSEN *et al.*, 2009; JARAMILLO *et al.*, 2012; NGUYEN *et al.*, 2007); asimismo, la producción de CB depende del pH del medio de cultivo y tensión de oxígeno.

La síntesis de CB se ha realizado en condiciones estáticas y agitadas, en forma continua y discontinua, en diferentes diseños de reactores en constante agitación y/u oxígeno (NORO *et al.*, 2004; CARREÑO, 2011; RUKA *et al.*, 2012). *G. xylinus* en condiciones estáticas de cultivos (KRYSTYNOWICZ *et al.*, 2002; MOON *et al.*, 2006; PHUNSRI *et al.*, 2003; CAICEDO *et al.*, 2001) produce celulosa en forma de una película superficial visiblemente plana en la interfase aire-líquido a temperatura ambiente, y puede ser procesada posteriormente con un tratamiento alcalino; mientras, que en condiciones de agitación (HEO y SON, 2002; CHENG *et al.*, 2002) es producida como suspensión fibrosa con una alta viscosidad que implica a su vez una gran fuerza de agitación si se desea mantener un alto coeficiente de transferencia de oxígeno.

El uso de diferentes estrategias de cultivo para la síntesis de CB, no ha

respondido satisfactoriamente, en términos de cantidad, a la creciente demanda de este producto. En América Latina no se han reportado estudios con relación al efecto de la fructosa sobre la síntesis o producción de celulosa por parte de *Gluconacetobacter xylinus* en condiciones estáticas y reactores cilíndricos. En consecuencia se plantea la necesidad de realizar una investigación donde se pueda lograr un alto rendimiento en el proceso de producción de CB, así como su viabilidad económica.

En el presente estudio se evaluó el efecto de diferentes concentraciones iniciales de fructosa sobre la producción de celulosa por *Gluconacetobacter xylinus* IFO 13693 en condiciones estáticas.

Materiales y métodos

Material biológico

Se utilizó la cepa silvestre *Gluconacetobacter xylinus* IFO 13693, donada por el Dr. Edgardo Escamilla, del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Medios y condiciones de cultivo

Para el mantenimiento y viabilidad de la cepa *Gluconacetobacter xylinus* IFO 13693 se usó el medio de agar-fructosa a temperatura ambiente. La composición del medio de cultivo líquido fue el siguiente: fructosa, amonio, citrato, suplementados con sales de magnesio, fosfato, calcio y potasio. Se utilizaron diferentes concentraciones iniciales de fructosa 1, 5, 10 y 15% (p/v). El pH inicial del medio fue 5.6 el cual fue ajustado con NaOH 1.0N o HCl 10% (v/v), todo los medios de cultivo fueron esterilizados en el autoclave a 121°C entre 15 y 20 minutos, a su vez los matraces fueron sometidos a luz UV durante 1 h antes de inocular el medio de cultivo. Posteriormente, muestras de *G. xylinus*, cultivadas en agar- fructosa fueron inoculadas en 50 mL en un matraz Erlenmeyer de 100 mL y se adiciono etanol 1.5%(v/v), incubadas a 30°C durante 36h en agitación a 125 rpm. Luego una vez realizados el control de pureza de los cultivos mediante la observación de las características morfológicas típicas en preparaciones en fresco y tinciones de Gram, fue seleccionado el medio de cultivo del pre inculo con mayor turbidez y formación de pequeñas fibras de celulosa, del cual se transfirió una alícuota que corresponde al 10% del inculo

que estaba en agitación a un matraz Erlenmeyer hasta tener el volumen final de 2 Litros; posteriormente fue incubado a 30°C durante 36 h a 125 rpm. Este inóculo final activado fue transferido a 72 biorreactores cilíndricos de vidrio de 9.5 cm de diámetro y 11 cm de altura, en cada biorreactor se utilizaron 200 mL de medio de cultivo, cubiertos con tapones de algodón a temperaturas de 30°C y pH inicial de 5.6 por 1, 3, 7, 14, 21 y 28 días (JARAMILLO *et al.*, 2012). Los experimentos se realizaron por triplicado en condiciones estáticas

Medición de los parámetros fisicoquímicos y mecánicos

Se estableció el peso de cada película de celulosa de los diferentes tiempos de cultivo; se retiraron del biorreactor y fueron lavadas con NaOH 0.1 N a 30°C durante 20 min, con el fin de disolver las células bacterianas; posteriormente, fueron lavadas con agua destilada o desionizada para remover las impurezas, y secadas con papel absorbente; después se determinó el peso húmedo de cada película de celulosa en una balanza analítica (OHAUS-PIONEER); a continuación, fue medido el grosor de cada película de celulosa con un calibrador o vernier (skinfold thickness (mm) slim guide/greave health products Plymouth MCH). Finalmente, se determinó la compresibilidad de la película de CB utilizando el método de Budhiono (BUDHIONO *et al.*, 1999); se colocó un peso de 2000 g por espacio de 30 segundos a la película de CB y se calculó la compresibilidad con la siguiente fórmula:

$$v = \left(1 - \frac{PD}{PI} \right) \times 100$$

Donde PI es el peso inicial de la película de celulosa y PD es el peso después de aplicar el método. Una vez realizadas estas mediciones las películas de celulosa fueron secadas a 60°C±10°C hasta que la celulosa alcanzó un peso constante (JARAMILLO *et al.*, 2012).

Fuente de carbono

Para determinar la cantidad de fuente de carbono, inicialmente se tomó un volumen del medio remanente de cada uno de los biorreactores en cada tiempo de incubación del cultivo, estos volúmenes fueron centrifugados a 15000 rpm en la centrifuga (ENGELSDORF / LEIPZIG DDR - 7123) por 30 min a 4°C para precipitar los sólidos suspendidos, 1 mL del sobrenadante fue tomado y utilizado para la cuantificación de fructosa. Para la cuantificación de fructosa se

utilizo el método Taylor (TAYLOR, 1995), donde se mezclaron 25 µL del sobrenadante, 750 µL de HCL concentrado y 25 µL del reactivo triptamina, esta solución se colocó en baño maría a 60°C durante 15 min y luego se dejaron en reposo en agua a temperatura ambiente durante 40 min, posteriormente fue leído contra un blanco de reactivo a 518 nm (spectrophometer GENESYS 10S UV-VIS); para obtener la concentración de cada muestra se utilizó una curva patrón de 0 a 50 µg de fructosa.

Coefficiente de rendimiento celulosa/fructosa (Yp/s)

El coeficiente de rendimiento (Yp/s), fue determinado como la relación de peso entre la CB seca producida y la fructosa consumida por *G. xylinus* durante los distintos tiempos de incubación por medio de la siguiente ecuación:

$$Y_{P/S} = \frac{\Delta P}{-\Delta S}$$

Donde ΔP , la cantidad de celulosa formada y ΔS el sustrato utilizado para la síntesis (NORO *et al.*, 2004; JARAMILLO *et al.*, 2012).

Los datos fueron analizados utilizando el software STATGRAPHIC plus 5.0, y se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial.

Resultados

Producción de celulosa por *G. xylinus*

La fructosa puede ser metabolizada por la glucólisis, formar glucosa que puede ser almacenada como glucógeno o para la síntesis de biopolímeros como la CB. El efecto de las concentraciones de fructosa en el tiempo sobre la producción de celulosa bacteriana en condiciones estáticas, se observa en los resultados obtenidos de los parámetros fisicoquímicos y mecánicos de la CB (Fig. 1). En la primera semana a concentraciones de fructosa 1 y 5% (p/v) la producción de fue de 36 y 32,5 g/L de CB, respectivamente; pero, a concentraciones de fructosa 10 y 15 % fue de 18 g y 3 g/L de CB. Los resultados indican que a menores concentraciones de fructosa la producción es mayor.

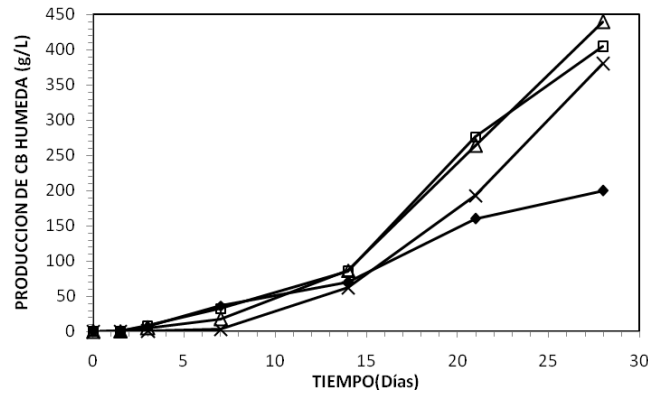


Figura 1. Producción de celulosa húmeda por *G. xylinus* cultivada en condiciones estáticas a concentraciones iniciales de fructosa (% p/v): 1 ◆, 5 □, 10 Δ y 15 X

Las películas de celulosa a una temperatura de $60^{\circ}\text{C} \pm 10^{\circ}\text{C}$ se secaron hasta alcanzar un peso constante. (Tabla 1). Los datos indican un peso seco de aproximadamente el 2% de su peso húmedo para la concentración de fructosa 1%; mientras, para concentraciones mayores de fructosa el peso seco se encuentra entre 3.5 a 5.5%. El volumen remanente tiende a disminuir a medida que aumenta la producción de celulosa.

Tabla 1. Peso seco de las películas de CB a los 28 días a diferentes concentraciones de fructosa

Fructosa % (p/v)	Peso húmedo g/L	Peso seco g/L	% Peso seco	% Volumen remanente
1	200	4	2	69
5	405	21	5.1	50
10	440	24	5.4	45
15	381	14	3.8	59

Los valores de pH (datos no mostrados) disminuyeron hasta 4.4 en las diferentes concentraciones de fructosa, donde el rango óptimo de pH para la producción de celulosa por *G. xylinus* es de 4.5 a 5.5, debido a que la síntesis de celulosa y el crecimiento de la bacteria se obstaculizan en medios que estén por encima de 6.0 y por debajo de 4.0.

En la Fig. 2 se observan los resultados con respecto al grosor de las películas de CB a diferentes concentraciones de fructosa. El grosor a los 28 días para las

concentraciones iniciales de fructosa 5% y 10% (p/v) se encuentran entre 12 y 14 mm de grosor; mientras, el grosor de las películas de CB para las concentraciones iniciales de fructosa 1% y 15% (p/v) se encuentran valores por debajo de 10 mm de grosor.

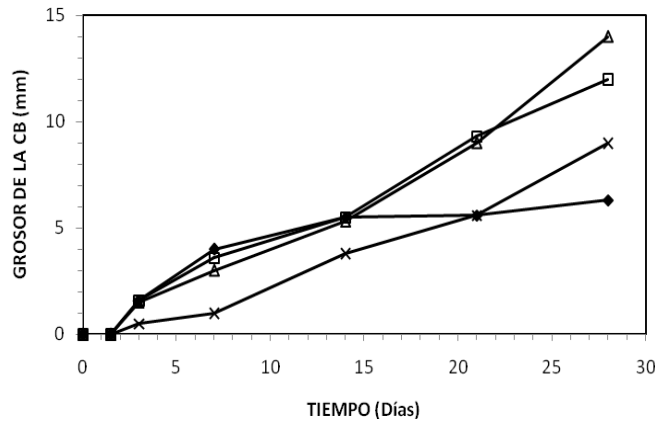


Figura 2. Grosor de las películas de celulosa en condiciones estáticas a concentraciones iniciales de fructosa (% p/v): 1, 5 □, 10 Δ y 15 X

La compresibilidad de las películas de CB (Fig. 3) presenta valores entre 100% y 5,9% durante el tiempo de cultivo, en los primeros días al ser las películas tan delgadas la compresibilidad es máxima, pero en las últimas semanas a medida que el tiempo de cultivo progresa la compresibilidad es menor para las concentraciones de 10 y 15% con valores de 15,4 y 5,9 % respectivamente.

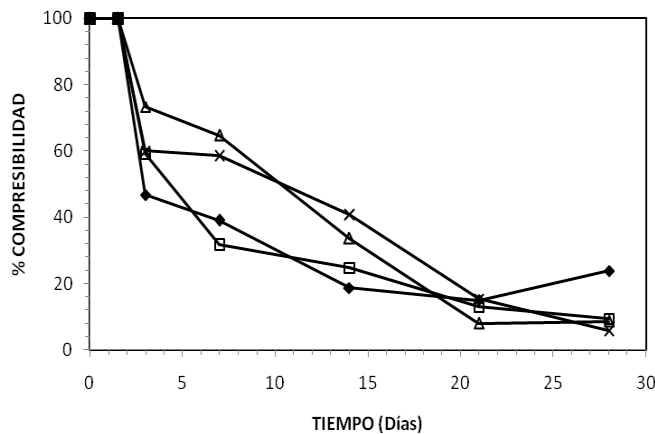


Figura 3. Porcentaje de compresibilidad de las películas de CB en condiciones estáticas a concentraciones iniciales de fructosa (% p/v) ◆ , 5 □, 10 Δ y 15 X

Consumo de sustrato

En este estudio se utilizó fructosa de tipo industrial como sustrato, donde el valor inicial de fructosa fue 1%, 5%, 10% y 15% (p/v) en el medio de cultivo y corresponde a la concentración del día cero. En Fig. 4 se observa el porcentaje de fructosa consumida por *G. xylinus* en los tiempos de incubación para las concentraciones iniciales de fructosa de 1, 5, 10 y 15% (p/v). La fructosa 1% (p/v) hasta el tercer día es consumida en un 75% y desde los 7 hasta 28 días la fructosa inicial es metabolizada entre 85% y un 90% con una velocidad de consumo entre 0.05 y 0.01 g/L/h; mientras para las concentraciones iniciales de fructosa 5, 10 y 15 % p/v el consumo a los 28 días es de 68, 80 y 61%, con velocidades de consumo de 0.05, 0.12 y 0.14 g/L/h respectivamente.

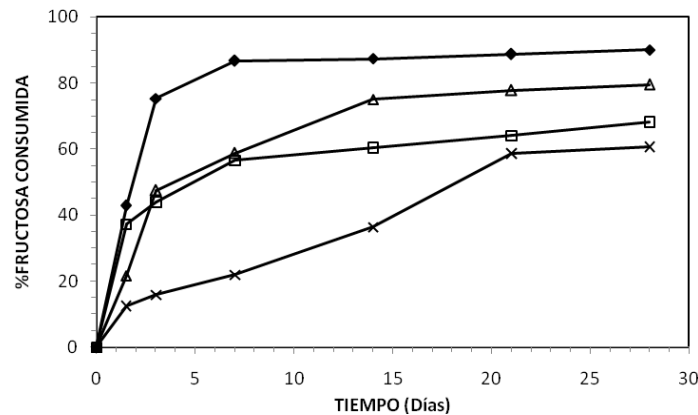


Figura 4. Porcentaje de fructosa consumida por *G. xylinus* cultivada en condiciones estáticas a concentraciones iniciales de fructosa (% p/v): 1, 5, 10 y 15X

Rendimiento del producto (Yp/s)

En la producción de celulosa por *G. xylinus* en cultivo estático, el Yp/s es afectado por las concentraciones iniciales de fructosa y el tiempo de fermentación como se muestra en Fig. 5. En las concentraciones iniciales de fructosa 1 y 5 % (p/v) se observan los valores más altos de rendimiento al inicio con 0.46 g celulosa seca/g de fructosa consumida y al final 0.60 g celulosa seca / g fructosa consumida respectivamente, mientras que para altas concentraciones iniciales de fructosa como 10 y 15 % (p/v) al inicio 0.30 g celulosa seca / g fructosa consumida y 0.16 g celulosa seca / g fructosa consumida respectivamente.

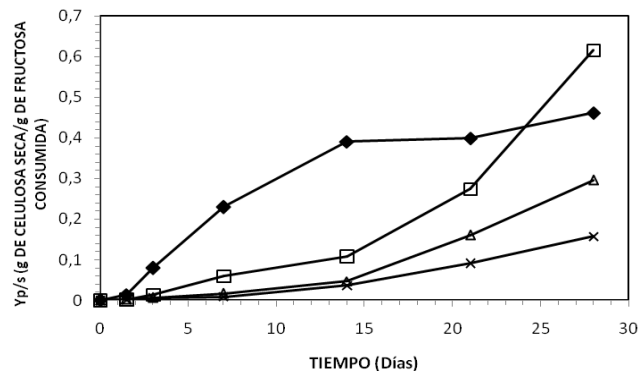


Figura 5. Efecto de las concentraciones iniciales de fructosa (% p/v): 1, 5, 10 y 15X, sobre el factor de rendimiento celulosa/fructosa (Yp/s)

Discusión

La síntesis de celulosa por *Gluconacetobacter xylinus* fue realizada en un medio de cultivo económico y sencillo en un cultivo estático a temperatura ambiente, en presencia de diferentes concentraciones iniciales de fructosa como fuente de carbono principal.

En la primera semana a concentraciones de fructosa 1 y 5% (p/v) la síntesis de CB es dos y doce veces mayor con respecto a fructosa 10 y 15% (p/v), así como la velocidad de producción la cual es dos y cinco veces mas alta que las concentraciones iniciales de fructosa 10 y 15% (p/v), La velocidad de formación promedio de CB fue diferente durante los 28 días de cultivo para cada una de las concentraciones iniciales de fructosa 1, 5, 10 y 15 % (p/v) con valores de 0,040; 0,048; 0,053; 0,031 g/L/h, respectivamente. A los 14 días se observa un aumento en la producción de CB, con respecto a los 7 días de aproximadamente 2, 2.7, 5 y 21 veces en presencia de fructosa 1, 5, 10 y 15% (p/v), respectivamente. Además desde los 14 a los 28 días se observa una pendiente ascendente en la síntesis de CB a las diferentes concentraciones de fructosa (Figure 3); sin embargo, en presencia de fructosa 5 y 10 % (p/v) la síntesis alcanza los valores mas altos de 400 y 450 gramos de CB/L de medio de cultivo. En resumen, los datos anteriores indican que la mejor concentración en términos de producción de CB es fructosa 10% (p/v) en el medio de cultivo.

La Tabla 1 muestra que mientras la producción de CB se aumenta el volumen remanente disminuye, de tal manera que a concentraciones de fructosa 5 y 10% (p/v) el volumen final a los 28 días es aproximadamente de un 50% con respecto al volumen inicial. Con respecto al peso seco los valores encontrados

resultaron muy cercanos al 5%, valor hallado por (WILLIAMS y CANNON, 1989); en relación a la humedad esta oscilo entre el 96 y el 98 % para las concentraciones en general, valores que se asemejan a los encontrados por (CHUNG *et al.*, 1999), aunque trabajaron con sacarosa, las curvas de peso húmedo y peso seco mostraron poca discrepancia evidenciando su relación en peso. Los grosores de la película de celulosa alcanzaron valores máximos de 14 mm, estos valores aumentaron según lo esperado en relación a los pesos húmedos y el tiempo de cultivo.

Los valores de pH varían durante todo el proceso de producción de CB pero es durante la primera semana que se evidencia el cambio mas significativo y luego se va haciendo lineal para todas las concentraciones de fructosa; Encontrándose que existe relación entre la concentración de fructosa y el pH del medio, ya que los valores de pH disminuyen al aumentar la concentración de fructosa indicando una mayor actividad metabólica a mayor concentración de sustrato (Fructosa). Por otra parte el efecto de ácidos como el Glucónico producidos durante el proceso de fermentación hasta los 28 días por *G. xylinus* es el responsable del descenso de los valores de pH (HWANG *et al.*, 1999), aún así estos valores se mantienen en el rango optimo, gracias a que son amortiguados por el buffer citrato-fosfato adicionado en el medio de cultivo, lo que nos sugiere la eficiencia de este buffer para la síntesis de CB y el control que ofrece de los riesgos adicionales de contaminación del medio que se presentan normalmente al no mantenerse el pH.

En relación a la compresibilidad esta tiende a disminuir a medida que aumenta la producción de CB, como consecuencia de las concentraciones iniciales de fructosa a diferentes tiempos de cultivo; asimismo, la compresibilidad esta en relación directa con el grosor de las películas de CB, que es reflejo de los puentes de hidrogeno entre la fibras de la celulosa con el agua.(BUDHIONO *et al.*, 1999). La fructosa es utilizada por *G. xylinus* como fuente de carbono, energía y en la síntesis de CB (CHENG *et al.*, 2002; POURRAMEZAN *et al.*, 2009; JARAMILLO *et al* 2012); Sin embargo, a una concentración inicial de fructosa 15% (p/v) tiene comportamiento similar a una curva sigmoideal. También, es importante mencionar que las curvas con un comportamiento hiperbólico tienen pendientes muy parecidas en los primeros tres días, posteriormente las pendientes sugieren una disminución en el metabolismo de la fructosa hasta cuando prácticamente no se observa el consumo de fructosa. La fructosa se convierte a glucosa 6 –fosfato por medio de la gluconeogénesis, vía de las pentosa fosfato o ciclo de los ácidos tricarbónicos, de tal manera que esta es isomerizada por la fosfoglucomutasa hasta glucosa 1-fosfato que se convierte a UDP- glucosa, por la UDP-glucosa-

fosforilasa, quien va a ser la precursora de la polimerización de la celulosa. Los resultados indican que concentraciones altas como estas requieren mayor tiempo de cultivo para obtener valores que puedan ser comparables.

En relación a la razón existente entre la cantidad de celulosa seca y la fructosa consumida, se pudo obtener el rendimiento durante el tiempo de cultivo como se observa en la Fig. 5. En esta se evidencia que para concentraciones de 1 y 5% de sustrato inicial, el rendimiento es mayor, con un valor del 60% en el estadio final. A diferencia de las altas concentraciones como las de 10% y 15% que tuvieron un bajo rendimiento durante el proceso, lo que indica que requerirían mayor tiempo de cultivo para lograr valores comparables con los obtenidos a bajas concentraciones.

Lo anterior permite concluir que utilizando un medio económico y sencillo, en presencia de fructosa a 5%(p/v) en condiciones estáticas se obtiene el mayor rendimiento de CB a los 28 días con una producción de 8% y 60 % más que las concentraciones de 1, 10 y 15 %(p/v), con pH finales de 4.4 a 5.6. El mayor consumo de fructosa condiciones estáticas por *G. xylinus* se presenta en la primera semana del experimento en un promedio de 72% del consumo final de todas las concentraciones, esto debido a distintos procesos metabólicos, como la utilización de fructosa como sustrato para la síntesis de CB, para la vía de pentosa fosfato y ciclo de krebs (CHENG *et al* 2002; POURRAMEZAN *et al* 2009; JARAMILLO *et al.*, 2012). Finalmente, los resultados obtenidos en la caracterización del proceso de síntesis de celulosa por *Gluconacetobacter xylinus* en este estudio, permiten avanzar en el diseño de un medio de cultivo de bajo costo y de un sistema de biorreactor que contribuya a una alta productividad de BC en un tiempo reducido, en perspectiva de escalar este bioproceso a nivel industrial.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado por la Universidad de Sucre. Expresamos un aprecio profundo a Julia Madero Chamorro, Arturo Doncel Mestra, Said Márquez Oñate y Alis José Mejía López por la ayuda generosa en algunos de los métodos utilizados.

Referencias

BUDHIONO A.; ROSIDI B.; TAHER H.; IGUCHI M. 1999. Kinetic aspects of bacterial cellulose formation in *nata-de-coco* culture system. Journal Carbohydrate Polymers. 40:137-143.

CAICEDO, L., DE FRANCA, F., y col. 2003. Permeabilidad hidráulica e hinchamiento en membranas de celulosa bacteriana. Memorias, III Congreso Internacional de Biomateriales BIOMAT.

CARREIRA, P.; MENDES, A.J.; TROVATTI, E. 2011. Utilization of residues from agro-forest industries in the production of high value bacterial cellulose. *Bioresource technology*. 10 (2): 7354–7360.

CARREÑO-PINEDA, L. 2011. Efecto de las Condiciones de Cultivo y Purificación sobre las Propiedades Fisicoquímicas y de Transporte en Membranas de Celulosa Bacteriana. Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de Doctor en Ingeniería. Bogotá D.C., Colombia.

CHAVEZ, P.J.; MARTINEZ, Y.S.; CONTRERAS M.L.; GOMEZ, S.; MEMBRILLO, H.J.; ESCAMILLA, M.J. 2005. Partial bioenergetic characterization of *Gluconacetobacter xylinum* cells released from cellulose pellicles by a novel methodology. *Journal of Applied Microbiology* . 99(5): 1130-1140.

CHENG H.; WANG P.M.; CHEN JW, WU W.T. 2002 Cultivation of *Acetobacter xylinum* for bacterial cellulose production in a modified airlift reactor. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 35:125-132.

CHUNG, YUNCHUNG; SHYU, YUANTAY. 1999. The effects of pH, salt, heating and freezing on the physical properties of bacterial cellulose-nata. *International Journal of food science and technology*. 34: 23-26.

HEO M.S.; SON H.J. 2002. Development of an optimized, simple chemically defined medium for bacterial cellulose production by *Acetobacter sp. A9* in shaking cultures. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 36 (Pt 1): 41-45.

HUBER, G.W.; IBORRA, S.; CORMA, A. 2006. Synthesis of transportation fuels from biomass: chemistry, catalysts, and engineering. *Chemical Reviews*. 106: 4044–4098.

ISHIHARA, M.; MATSUNAGA, M.; HAYASHI, N.; TISLER, V. 2002. Utilization of D-xylose as carbon source for production of bacterial cellulose. *Enzyme and Microbial Technology*. 31: 986–991.

JARAMILLO, L. R.; TOBIO, J.W.; ESCAMILLA M.J. 2012. Efecto de la sacarosa en la producción de celulosa por *Gluconacetobacter xylinus* en cultivo estático. *Rev. MVZ Córdoba*. 17(2): 3004-3013.

KLEMM, D.; SCHUMANN, D.; UDHARDT, U.; MARSCH, S. 2001. Bacterial synthesized cellulose artificial blood vessels for microsurgery. *Progress in*

Polymer Science. 26: 1561–1603.

KRYSTYNOWICZ, A.; CZAJA, W.; WIKTOROWSKA, J.A.; GONÇALVES, M.M.; TURKIEWICZ, M. BIELECKI, S. 2002. Factors affecting the yield and properties of bacterial cellulose. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 29:189-195.

MIKKELSEN, D.; FLANAGAN, B.M.; DYKES, G.A.; GIDLEY, M.J. 2009. Influence of different carbon sources on bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* strain ATCC 53524. *Journal of Applied Microbiology*.

MOON, S.H.; PARK, J.M.; CHUN, H.Y.; KIM, S.J. 2006. Comparisons of physical properties of bacterial celluloses produced in different culture conditions using saccharified food wastes. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 11: 21-31.and

NGUYEN, V. 2007. Improved Yield and Application of Bacterial Cellulose Synthesized by *Gluconacetobacter xylinus* from Kombucha. Master's Thesis, School of Land, Crop and Food Sciences, University of Queensland.

NGUYEN, V. T., FLANAGAN, B., GIDLEY, M. J., DYKES, G. A. 2008. Characterization of cellulose production by a *Gluconacetobacter xylinus* strain from Kombucha. *Current Microbiology*, 57(5), 449–453.

NORO, N.; SUNGANO, Y.; SHOJA, M. 2004. Utilization of the buffering capacity of corn steep liquor in bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 64: 199-205

POURRAMEZAN, G.Z.; ROAYAEI A.M.; QEZELBASH,Q.R. 2009. Optimization of culture conditions for bacterial cellulose production by *Acetobacter* sp. 4B-2. *Biotechnology*. 8: 150-154.

RUKA, R.; SIMON, G.; DEAN, K. 2012. Altering the growth conditions of *Gluconacetobacter xylinus* to maximize the yield of bacterial cellulose. *Journal Carbohydrate Polymers*.

SEONG, J. ; LEE, S.E.; YANG, H.; JIN, Y-H.; PARK, CH.; PARK, Y. 2010. Toxicologic evaluation of bacterial synthesized cellulose in endothelial cells and animals. *Molecular and Cellular Toxicology*. 6, 373–380 .

SHEAD, O.; KHAN, S.; KHAN, T.; PARK, J. K. 2009. Production of bacterial cellulose in static conditions by a simple fed-batch cultivation strategy. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 26: 1689–1692.

TAYLOR, KAAC. 1995. A Colorimetric Fructose Assay. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 53 (3): 215-227.

WEIA, B.; YANGA, B.G.; HONG, F. 2011. Preparation and evaluation of a kind of bacterial cellulose dry films with antibacterial properties. *Journal Carbohydrate Polymers*.84: 533–538.

WILLIAMS, SCOTT Y CANNON, ROBERT. 1989. Alternative environmental roles for cellulose produced by *Acetobacter xylinum*. *Applied and Environmental Microbiology*.55, 2448-2452.