

# SUBPRODUCTOS DE LA ELABORACIÓN DE LA SIDRA: FUENTE DE NUTRIENTES ALTERNATIVA PARA LA PRODUCCIÓN DE CELULOSA BACTERIANA

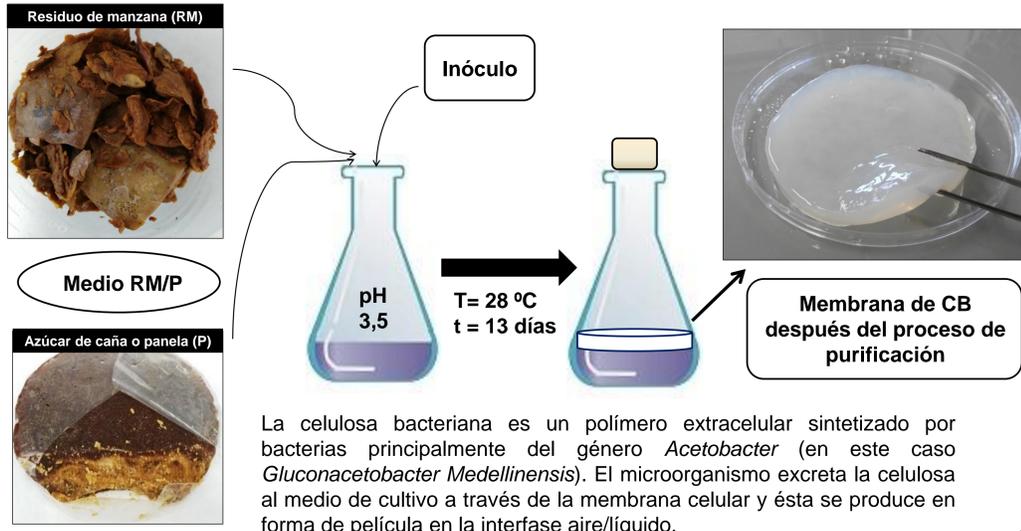
<sup>1</sup>Grupo 'Materiales + Tecnologías', Escuela de Ingeniería de Gipuzkoa, Departamento de Ingeniería Química y del Medio Ambiente, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Pza. Europa 1. 20018 Donostia - San Sebastián

<sup>2</sup>Grupo de Biotecnología de Polímeros, Departamento de Biología Medioambiental, Centro de Investigaciones Biológicas, Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid

## INTRODUCCIÓN

Actualmente la acumulación de plásticos derivados del petróleo ha llevado al desarrollo de biopolímeros biodegradables de origen renovable. En este sentido, los polímeros producidos por bacterias como la celulosa bacteriana (CB) se consideran especialmente útiles en aplicaciones relacionadas con la alimentación como en envasado de alimentos, recubrimientos alimenticios y films comestibles. La CB es biocompatible, presenta mayor cristalinidad que la celulosa derivada de las plantas, excelentes propiedades mecánicas y alta capacidad de retención de agua debido a la estructura tipo red en 3D formada por las nanofibras durante la biosíntesis. El proceso de producción de CB está gobernado por los costes de las materias primas, especialmente las fuentes de carbono. Esto ha llevado al uso de fuentes de carbono no convencionales como residuos de frutas. En el País Vasco el sector de la elaboración de la sidra tiene especial importancia (produce alrededor del 20% del total de sidra elaborada en España). Del total de materia contenida en la manzana, alrededor del 65% es utilizado para el mosto, por lo que queda una gran cantidad de residuo que ocupa mucho espacio y genera problemas medioambientales. Este residuo proporciona una fuente de carbono barata para producir CB y además, es rico en compuestos polifenólicos con propiedades antioxidantes.

## PROCESO DE PRODUCCIÓN DE CELULOSA BACTERIANA



## OPTIMIZACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

### NUTRIENTES

Cultivo	Relación residuo manzana (g)/panela(g)	Rendimiento (g/L)
Piel manzana fresca	1/2,3	14,9 ± 4,8
RM/P (1)	1/2,3	14,4 ± 1,6
RM/P (2)	0,5/2,8	21,3 ± 8,7
RM/P (3)	2/1,3	12,5 ± 2,4
RM/P (4)	1,5/2,3	24,9 ± 3,3
H-S	-	18,4 ± 7,8

Para optimizar el medio de cultivo se prepararon cultivos con diferentes proporciones de residuo de manzana/panela, obteniéndose rendimientos mayores que los obtenidos con medios de cultivo comerciales (H-S). El cultivo RM/P (4) fue elegido como óptimo y los estudios posteriores se realizaron con este medio.

### INFLUENCIA DEL pH

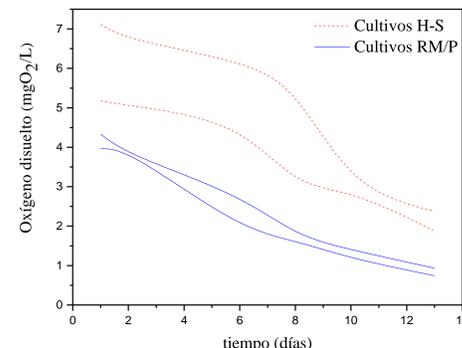
Cultivo	pH inicial	pH día 7	Número de UFCs
H-S	6	~4	20
H-S	3,6	3-4	28
RM/P	5,6	~4	14
RM/P	3,6	~3,6	44

Las bacterias acidifican el medio de cultivo a medida que van produciendo la celulosa.

El número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) es más elevado en las placas preparadas con medios ácidos.

Los medios ácidos parecen ser más favorables para el crecimiento bacteriano y además previenen contaminantes.

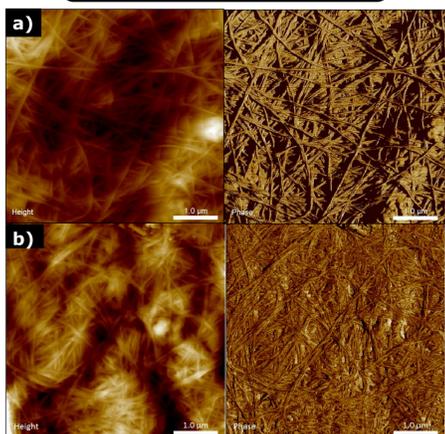
### CONSUMO DE OXÍGENO



El consumo de oxígeno en los cultivos fue estudiado mediante el método Winkler y se observó que el porcentaje de disminución de oxígeno disuelto es del 65% ± 2 en el medio H-S y del 80% ± 2 en el medio RM/P.

## CARACTERIZACIÓN DE MEMBRANAS

### Microscopía de fuerza atómica (AFM)



Imágenes de AFM de altura (izq.) y fase (dcha.) de BC obtenida de: a) H-S, b) RM/P.

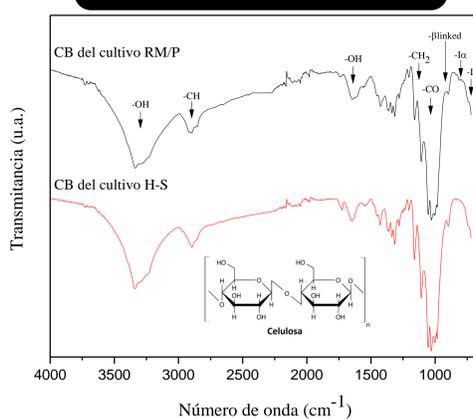
Ambas membranas muestran una red en 3D uniforme y continua en la escala nanométrica característica de las nanofibras celulósicas orientadas en el plano siendo las nanofibras de la celulosa obtenida en el medio RM/P ligeramente más finas.

### Otras propiedades

	H-S	RM/P
Grado de Polimerización	3700 ± 520	3300 ± 600
IC <sup>XRD</sup> (%)	68	80
IC <sup>IR</sup> (A <sub>1430</sub> /A <sub>897</sub> )	2,10	5,36
CRA (%)	162 ± 28	165 ± 34

Ambas membranas muestran una capacidad de retención de agua (CRA) similar y mayor del 100%.

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

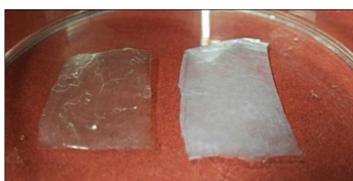


Espectros FTIR de las membranas de CB de los cultivos RM/P y H-S.

### Propiedades mecánicas

	H-S	RM/P
E (MPa)	6750 ± 2160	10410 ± 1190
σ <sub>max</sub> (MPa)	50 ± 34	89 ± 30

El índice de cristalinidad (IC) indica el grado de ordenamiento de las regiones cristalinas. En el medio RM/P el ordenamiento es mayor que en el H-S, ya que el índice de cristalinidad calculado mediante XRD y FTIR es mayor, lo que se ve reflejado en las propiedades mecánicas: mayores valores de módulo elástico y tensión máxima.



Imágenes de CB del cultivo RM/P seca (izq.) y después de ser sumergida en agua (dcha.).

## Trabajos Futuros...

- Extracción de compuestos polifenólicos con carácter antioxidante de la torta de la sidra para desarrollar membranas activas
- Obtención de nanocristales de CB para su empleo en nanocomposites como nano-refuerzos
- Desarrollo de composites basados en CB y otros biopolímeros para su empleo en envasado activo de alimentos.
- Desarrollo de membranas de filtración, purificación o separación de corrientes acuosas

## REFERENCIAS

- Shah N., Ul-Islam M., Khattak W. A., Park J. K. Carbohydr. Polym. 98: 1585-1598, 2013.  
Martínez-Sanz M., Lopez-Rubio A., Lagaron J.M. Carbohydr Polym. 85:228-236, 2011.  
Algar I., Fernandes S.C.M., Mondragon G, Castro C, García-Astrain C., Gabilondo N., Retegi A., Eceiza A. J. Appl. Polym. Sci. 132, 41237, 2014.

## Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero de la Fundación Domingo Martínez (2015-Área Materiales 2), del Ministerio de Economía y Competitividad de España (MINECO) (MAT2013-43076-R) y del Gobierno Vasco en el marco de Grupos Consolidados (IT-776-13). También, agradecen a los Servicios Generales de Investigación (SGIker) de la UPV/EHU por permitir el uso de las instalaciones de la unidad 'Macrocomportamiento-Mesoestructura-Nanotecnología'. Leire Urbina agradece al Gobierno Vasco la concesión de la Ayuda para la Formación de Personal Investigador no doctor (PIF PRE\_2015\_2\_0009).