

**Estudio del crecimiento de *S. cerevisiae* en sustratos biopoliméricos
(biomasa residual de cultivos de yuca y almidón)**

María Camila Sánchez Chaux

**Directora:
Sixta Palencia Luna**

**Codirectora:
Viviana Garcés Villegas**

**Universidad Santiago de Cali
Facultad de Ciencias Básicas
Programa de Microbiología
Cali, Colombia
2023**

**Estudio del crecimiento de *S. cerevisiae* en sustratos biopoliméricos
(biomasa residual de cultivos de yuca y almidón)**

María Camila Sánchez Chaux

**Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de:
Microbiólogo**

**Director (a)
Sixta Palencia Luna**

**Codirectora:
Viviana Garcés Villegas**

**Línea de Investigación:
Sustentabilidad en el uso y transformación de la naturaleza**

**Grupo de Investigación:
Grupo de Investigación en Microbiología, Industria y Medio Ambiente
(GIMIA)**

**Universidad Santiago de Cali
Facultad de Ciencias Básicas
Programa de Microbiología
Ciudad, Colombia
2023**

IMPACTOS

Relacione el (los) impacto(s) que presentó el Trabajo de Grado

IMPACTO	PRODUCTO	BENEFICIARIO(S)
Institucional	Fortalecimiento de los grupos de investigación del programa de microbiología. Avance en la consecución de proyectos interdisciplinarios.	U. Santiago de Cali. Universidad del Valle
Científico	Creación de nuevas líneas de investigación y fortalecimiento de las líneas preexistentes. Formación de nuevos estudiantes.	U. Santiago de Cali. Universidad del Valle
Indicadores de Gestión	Mejora en los indicadores nacionales e internacionales en materia de investigación.	U. Santiago de Cali. Universidad del Valle
Académico	Generación de nuevo conocimiento. Entrenamiento, difusión y fortalecimiento de las competencias de profesionales en formación.	U. Santiago de Cali. Universidad del Valle
Tecnológico	Desarrollo de bioplástico sintetizado a partir de residuos del cultivo de yuca.	Sector agrícola
Ambiental	Contrarrestar la residualidad de la biomasa producida a partir de cultivos de yuca, mediante procesos de biodegradación direccionado al desarrollo de biopolímeros, lo anterior significa que su uso puede ser posteriormente extrapolado a otras aplicaciones eco-amigables.	Sector agrícola Sanidad ambiental de las regiones
Social	Formación de capital humano. Desarrollo de nuevo conocimiento en el marco de sustratos poliméricos a partir de material orgánico.	Sector agrícola Sanidad ambiental de las regiones
Cultural	Contribuir con el fortalecimiento y madurez del comportamiento de la comunidad ante el tratamiento y aprovechamiento de residuos orgánicos como fuente para líneas de trabajo en investigaciones multisectoriales.	Regiones productoras de yuca

*Incluir los productos obtenidos derivados de la investigación como: apropiación social del conocimiento, generación de nuevo conocimiento entre otros.

Estudio del crecimiento de *S. cerevisiae* en sustratos biopoliméricos (biomasa residual de cultivos de yuca y almidón)

María Camila Sánchez Chau¹, Sixta Palencia Luna², Viviana Garcés Villegas²

¹ Estudiante de Microbiología, Universidad Santiago de Cali. Colombia.

email: maria.sanchez@usc.edu.co

² Ph.D, Docente, Universidad Santiago de Cali, *Grupo de Investigación en Microbiología, Industria y Medio Ambiente (GIMIA)*, Campus Pampalinda Calle 5 # 62-00. Santiago de Cali. Colombia.

email: sixta.palencia00@usc.edu.co

³ MS.c, Investigadora, Universidad Santiago de Cali, Mindtech Research Group (Mindtech-RG), Montería – Córdoba Departamento de Química, Facultad de Ciencias básicas, Cali 760032. Colombia.

email: vivianagarcsvillegas0620@gmail.com

RESUMEN

Los productos plásticos de un solo uso se utilizan por un período muy corto de tiempo o una sola vez antes de ser desechados, y su acumulación genera un gran impacto negativo en el medio ambiente. Entre las alternativas para contrarrestar estos daños se encuentra el diseño de nuevas tecnologías para la fabricación y la utilización de biomasa con potenciales propiedades de biodegradación. Esta investigación tiene como objetivo evaluar el crecimiento de la cepa *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 sobre un bioplástico sintetizado a partir de residuos del cultivo de yuca (*Manihot esculenta*) mediante la técnica de espectroscopia FTIR-ATR. La cepa se aisló y estudió morfológicamente, enseguida, los materiales se inocularon por 24 h a 35 °C tanto en medio líquido, como en medio sólido y, finalmente se evaluaron mediante FTIR en un rango de longitud de onda de (4000 – 600 cm⁻¹). En conclusión, la observación microscópica confirmó que *S. cerevisiae* es una levadura unicelular con una morfología específica. El experimento en medio líquido permitió determinar que el tiempo máximo de mayor crecimiento fue a las 24 h con una densidad celular promedio de 29 x 10⁸ UFC/ml, y, la pérdida de peso fue mayor en el B(h+t) con 18 %. Por último, la evaluación a través de FTIR permitió observar cambio a lo largo del espectro y en el rango 1800 a 1300 cm⁻¹ donde se identificaron señales correspondientes a los enlaces ν_d C=O y N-H y ν_t N-H de peptidoglucano depositado como biopelícula en los diferentes materiales poliméricos.

Palabras clave: *Saccharomyces cerevisiae*, bioplástico, *Manihot esculenta*, espectroscopia FTIR-ATR, biopelícula.

Study of the growth of *S. cerevisiae* on biopolymeric substrates of starch and cassava crop residues

Abstract

Single-use plastic products are used for a very short period of time or once before being discarded, and their accumulation generates a significant negative impact on the environment. Among the alternatives to counteract these damages is the design of new technologies for the manufacture and use of biomass with potential biodegradation properties. This research aims to evaluate the growth of the *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 strain on a bioplastic synthesized from cassava (*Manihot esculenta*) residues using FTIR-ATR spectroscopy. The strain was isolated and morphologically studied, then the materials were inoculated for 24 h at 35 °C in both liquid and solid media, and finally evaluated using FTIR in a wavelength range of (4000 – 600 cm⁻¹). In conclusion, microscopic observation confirmed that *S. cerevisiae* is a unicellular yeast with a specific morphology. The experiment in liquid medium allowed to determine that the maximum growth time was at 24 h with an average cell density of 29 x 10⁸ CFU/ml, and the weight loss was higher in the B(h+t) with 18 %. Finally, the evaluation through FTIR allowed to observe changes throughout the spectrum and in the range of 1800 to 1300 cm⁻¹ where signals corresponding to the ν_d C=O and N-H bonds and ν_t N-H of peptidoglycan deposited as a biofilm on the different polymeric materials were identified.

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, bioplastic, *Manihot esculenta*, FTIR-ATR spectroscopy, biofilm.

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el plástico es uno de los más grandes contaminantes, la utilización excesiva de éstos ha repercutido de manera negativa en el medio ambiente y la salud humana. Por su bajo costo en la producción, versatilidad y buenas propiedades mecánicas, estos materiales se convirtieron en una parte indispensable para las distintas actividades del ser humano, reemplazando incluso al papel y al vidrio para algunas actividades comerciales [1]. Sin embargo, su uso desmesurado se convirtió en un problema por el gran volumen de desechos que genera y por ser un material no biodegradable [2]. En este orden de ideas, las alternativas que han surgido para mitigar el daño por plásticos de un solo uso, es el desarrollo de materiales de carácter *bio-*, ecoamigables o materiales sintetizados a partir de procesos sustentables, es decir, que se produzcan a partir de biomasa y/o desechos agroindustriales. Por otra parte, que dentro de sus propiedades finales se descarte la degradación por agentes como luz solar, compost, entre otros. Los materiales biodegradables son susceptibles de degradación por actividad biológica, cuya degradación está acompañada de una disminución de su masa molar. Es decir, los polímeros capaces de ser mineralizados (convertidos en compuestos inorgánicos) mediante la acción de microorganismos obteniendo como productos finales compuestos de carbono y agua [3].

Los bioplásticos son un tipo de plásticos biodegradables que se obtienen a partir de materias primas orgánicas, y que llegan a ser biodegradables por microorganismos como bacterias, hongos, algas, entre otros. La ventaja que ofrecen los bioplásticos es que amparan fuentes de energía no renovables como lo es el petróleo y disminuye el problema cada vez más difícil del manejo de desechos. Por otra parte, el almidón -utilizado como materia prima en la producción de bioplásticos- es un polisacárido abundante, de bajo costo, renovable y totalmente biodegradable que se encuentra en las plantas [4]. Brindan beneficios al planeta, ya que no contienen sustancias químicas perjudiciales, lo que les agrega gran importancia para el cuidado del planeta. Es posible aprovechar residuos que se generan en grandes cantidades en los hogares, comercio de comidas y la industria, como es almidón de yuca, material que es desperdiciado debido a que no se conoce sobre su reutilización como materia prima para la generación de bioplásticos.

El cultivo de yuca ocupa la segunda posición en importancia en toda la industria de producción de almidón. El tubérculo en este caso es la raíz de la planta, pulpa y carnosa, y la cáscara, dura y fibrosa. La yuca se está considerando como materia prima para la producción de etanol. El altísimo contenido de almidón (< 20-30 % en peso seco), alta productividad y alta tolerancia del cultivo a las sequías, la salinidad y al cambio climático han valorado a la yuca como un cultivo industrial ideal para bioprocesamiento y valor agregado para productos químicos industriales y otros bioproductos [5]. La agroindustria de almidón de yuca es una de las que está sólidamente establecida y ampliamente distribuida, especialmente en las zonas tropicales y subtropicales del planeta. Se ha calculado que la producción anual de raíces de yuca excede los 250 millones de toneladas [6]. Estas raíces se someten a procesos de transformación para obtener almidón de yuca, un componente esencial en la alimentación que provee nutrición y contribuye a garantizar la seguridad alimentaria en numerosos países alrededor del mundo [7].

Se ha comprobado que los plásticos elaborados a partir de almidón de yuca presentan características mecánicas y térmicas similares a las del plástico tradicional, además de ser biodegradables en condiciones adecuadas. La variedad de productos obtenidos está vinculada al gránulo del almidón a través de procesos enzimáticos y fisicoquímicos que provocan alteraciones moleculares y modifican algunas de sus propiedades. Debido a sus atributos nutricionales y funcionales, este almidón se emplea principalmente para transformar la materia prima en alimentos, textiles, papel, cosméticos y productos farmacéuticos [8]. El proceso de producción de bioplásticos a partir del almidón de yuca generalmente implica la extracción del almidón de la raíz de la yuca, seguida de la mezcla del almidón con otros componentes para mejorar las propiedades mecánicas y de degradación del material resultante. Estos componentes pueden incluir plastificantes, como el glicerol, y agentes de refuerzo como fibras naturales o nanomateriales.

En cuanto a las propiedades mecánicas, los plásticos biodegradables de yuca tienen una resistencia y flexibilidad similares a los plásticos convencionales, lo que los hace adecuados para una amplia gama de aplicaciones, como

envases, bolsas y utensilios desechables. No obstante, estos plásticos biodegradables tienen una limitación importante en cuanto a su capacidad de resistir altas temperaturas, lo que acota su uso en aplicaciones. Los plásticos biodegradables a partir de la yuca son una alternativa prometedora a los plásticos convencionales, por su biodegradabilidad, ser no tóxicos y poseer propiedades mecánicas similares al plástico. A pesar de esto, todavía hay desafíos en su producción y uso, como la necesidad de mejorar su capacidad de resistir altas temperaturas [9].

S. cerevisiae es un organismo modelo, una herramienta valiosa para todos los aspectos de la investigación básica, pero a diferencia de otros microorganismos modelo, como *Escherichia coli* o *Caenorhabditis elegans*, *S. cerevisiae* es también una especie muy valiosa para una variedad de aplicaciones industriales. La utilidad biotecnológica de *S. cerevisiae* reside en sus características biológicas únicas, es decir, su capacidad de fermentación, acompañada de la producción de alcohol y CO₂ y su resiliencia a condiciones adversas de osmolaridad y pH bajo. Entre las aplicaciones más destacadas que implican el uso de *S. cerevisiae*, se encuentran las industrias de producción de alimentos, bebidas -especialmente vino- y biocombustibles [10]. En el caso de los bioplásticos, el crecimiento de microorganismos que promuevan la degradación, se ha convertido en un tema de gran interés debido a su potencial para mitigar los problemas ambientales asociados con los plásticos derivados del petróleo. Actualmente, existen diferentes estrategias para la biodegradación de bioplásticos, incluyendo la utilización de microorganismos, enzimas y procesos fisicoquímicos [11].

En general, aunque se han realizado importantes avances en el estudio del crecimiento de microorganismos sobre sustratos biopoliméricos, aún existen desafíos importantes que deben ser abordados, como la eficiencia de la degradación, la viabilidad económica de los procesos y la necesidad de infraestructuras adecuadas para la recolección, reciclaje y eliminación de los residuos de bioplásticos. Además, es importante tener en cuenta que la biodegradación no siempre es una solución viable para el tratamiento de los residuos de bioplásticos, y que la reducción del consumo y la producción de plásticos en general siguen siendo una prioridad para mitigar los problemas ambientales asociados con el plástico. El presente trabajo busca evaluar las características del crecimiento de *S. cerevisiae* en sustratos biopoliméricos (almidón y biomasa residual de cultivos de yuca) a diferentes relaciones, mediante la técnica de espectroscopia FTIR-ATR (espectroscopia de Infrarrojo con transformada de Fourier) en un rango de evaluación entre 4000 – 600 cm⁻¹.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Caracterización y aislamiento

2.1.1. Aislamiento en medio sólido:

La cepa de *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, suministrada por el laboratorio de docencia en microbiología de la Universidad Santiago de Cali, se aisló a través de un medio de cultivo sólido siguiendo el procedimiento detallado a continuación. Se realizó una siembra por agotamiento de *S. cerevisiae* ATCC 9763 en agar Sabouraud. Posteriormente, se incubó a 37 °C en condiciones de aerobiosis durante 24 horas.

2.1.2. Caracterización de la cepa

Una vez se obtuvo el aislamiento de la cepa de trabajo, se procedió a realizar una caracterización a nivel microscópico mediante la tinción de Gram. En este proceso, se extrajo una pequeña cantidad de colonia del aislamiento de *S. cerevisiae* y se depositó en el centro de un portaobjetos previamente limpio. Para la fijación, el portaobjetos con el frotis se sometió a la acción de una llama de mechero Bunsen, y luego se procedió a realizar la tinción primaria empleando cristal violeta durante un minuto, seguido de un suave lavado con agua para eliminar el exceso de colorante. Subsecuentemente, se cubrió el frotis con solución de lugol durante un minuto y se efectuó otro lavado. La decoloración se llevó a cabo mediante el uso de alcohol acetona durante unos segundos y, finalmente, se recubrió el frotis con safranina durante un minuto. Para la observación microscópica de la levadura, se utilizó aceite de inmersión para el objetivo 100 X y un microscopio digital equipado con una cámara OLYMPUS EP50.

2.2. Evaluación de crecimiento sobre sustrato polimérico

2.2.1. Preparación del inóculo estandarizado

El inóculo de *S. cerevisiae* se estandarizó mediante la escala de McFarland utilizando espectrofotometría a una longitud de onda de 625 nm, con el patrón de referencia 0,5 correspondiente a una suspensión homogénea de $1,5 \times 10^8$ UFC/ml. Para ello, se tomaron varias asadas del cultivo de *S. cerevisiae* previamente aislada y se suspendió en un tubo de ensayo con caldo de Sabouraud verificando la turbidez y haciendo una comparación de manera cualitativa y cuantitativamente (por espectrofotometría) con el patrón 0,5 que se encuentra entre el rango 0,08 a 0,13 nm, para llevar a cabo los ensayos de crecimiento y verificar cómo se comportan los sustratos biopoliméricos con el microorganismo en función del tiempo y la densidad óptica.

2.2.2. Preparación del sustrato de polimérico

Los sustratos poliméricos, que incluyen (i) Bolsa plástica (BP), (ii) Bolsa biodegradable comercial (BB) y (iii) Bioplástico (hojas + tallo) (B(h+t)); se cortaron en áreas aproximadas de 1,0 cm² mediante cuchillas estériles. Esta manipulación se llevó a cabo meticulosamente, siguiendo protocolos asépticos puesto que no se consideró apropiado el empleo de la autoclave para esterilizar estos sustratos dada su capacidad limitada para resistir tanto el calor como la presión, lo que podría provocar deformaciones o deterioros en el material por su naturaleza particular. Por consiguiente, se optó por someter los sustratos a una exposición de aproximadamente 1 hora a luz ultravioleta, con el objetivo de garantizar en la medida de lo posible, la eliminación de cualquier contaminación microbiana en estos materiales teniendo en cuenta su naturaleza biológica. Seguidamente, se colocaron los sustratos en un horno a una temperatura de 70 °C hasta que alcanzaron un peso constante. Se registró el peso tanto antes de iniciar el experimento como al finalizarlo, con el fin de llevar a cabo una valoración gravimétrica del material.

2.2.3. Evaluación de crecimiento en medio sólido

El crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*, se realizó en el medio de cultivo Sabouraud Dextrose Agar, compuesto principalmente de peptona y dextrosa (glucosa) como fuentes de nutrientes. Con el fin de asegurar la precisión de los resultados, todos los análisis se realizaron por triplicado. El control positivo se estableció inoculando la levadura en el medio de cultivo, mientras que el control negativo consistió en el medio de cultivo con la inclusión solamente del sustrato polimérico. A partir del inóculo estandarizado, se realizó una siembra masiva empleando un hisopo para asegurar una distribución uniforme. Posterior a esto, los sustratos, previamente esterilizados, cortados y pesados, se dispusieron sobre la superficie del agar y se incubaron a 37 °C durante un período de 24 horas.

2.2.4. Evaluación de crecimiento en medio líquido

Para el crecimiento de *S. cerevisiae* en medio líquido, se emplearon tubos de ensayo que contenían 9 ml de caldo Sabouraud. En estos tubos, se añadió 1,0 ml del inóculo junto con 1,0 cm² del sustrato biopolimérico. La concentración de microorganismos en el medio líquido se determinó mediante la toma de alícuotas cada 4 horas durante un período de 2 días, midiendo la absorbancia a una longitud de onda de 625 nm. Al concluir el experimento, todas las muestras de los tratamientos se sometieron a un proceso de deshidratación en un horno a 70 °C hasta alcanzar un peso constante. Esto se llevó a cabo con la finalidad de eliminar la humedad y calcular la variación de peso desde el inicio hasta la conclusión del experimento.

2.3. Valoración gravimétrica del material

Esta técnica es una manera sencilla y eficaz para medir la biodegradación de los polímeros mediante la pérdida de peso. Para realizar el análisis, se utiliza la siguiente ecuación: $\frac{P_f}{P_i} \times 100$ En donde P_f : Peso Final y P_i : Peso inicial.

2.4. Evaluación del crecimiento *S. cerevisiae* sobre los sustratos poliméricos por Espectroscopía de Infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR-ATR)

La interacción entre el crecimiento del microorganismo y el sustrato biopolimérico, se analizaron mediante espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier acoplada a reflectancia total atenuada (FTIR-ATR), mediante el uso de un espectrofotómetro IRAffinity-1S (Shimadzu Co, Kyoto, Japón), en el rango de 4000 a 600 cm⁻¹, con una resolución de 4 cm⁻¹, apodización Box-car y 16 scan. Todas las muestras se analizaron por quintuplicado.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación de las diferentes condiciones de siembra contribuyó a la caracterización completa de la cepa *S. cerevisiae*. La Figura 1, el medio de cultivo corresponde al agar Sabouraud sin inocular (control), seguido de una siembra por agotamiento para la caracterización macroscópica y microscópica de las colonias a partir de un cultivo puro para la posterior masificación de *S. cerevisiae* ATCC 9763 a partir de una siembra masiva (explicación corresponde a las imágenes de izquierda a derecha).

Siembra en medio sólido de agar Sabouraud *S. cerevisiae* ATCC 9763



Figura 1. Siembra en medio sólido de agar Sabouraud *S. cerevisiae* ATCC 9763. **Fuente:** Elaboración propia.

En el entorno controlado del medio de control, se proporcionaron las condiciones estándar para el crecimiento de *S. cerevisiae*, permitiendo un crecimiento saludable y bien establecido. La siembra en medio sólido de agar Sabouraud para aislamiento reveló la capacidad de la cepa para colonizar y prosperar en condiciones más selectivas, evidenciada por la presencia de colonias aisladas. Esto indicó la capacidad de la cepa para competir y sobrevivir en entornos específicos. En la siembra masiva, la cepa enfrentó una competencia en la búsqueda de recursos y espacio. Se observó un crecimiento robusto, demostrando su capacidad de adaptación a condiciones más desafiantes.

La siembra en medio líquido Sabouraud, Figura 2, permitió un crecimiento en un entorno más dinámico y homogéneo. Se buscaba una respuesta que reflejara la adaptabilidad de la levadura a condiciones líquidas, relevantes para la formación de biopelículas. La siembra en medio líquido simulaba condiciones más cercanas a las que la levadura encontraría al interactuar con los diferentes materiales. La diferencia en las respuestas de crecimiento entre el medio de control y el medio líquido indicó la capacidad de la cepa para adaptarse a diferentes entornos. La evaluación de la cepa en medios líquidos fue crucial para comprender su comportamiento en condiciones que podrían imitar mejor la realidad de su interacción con sustratos poliméricos. Estos resultados permitieron tener patrones de referencia para contextualizar los resultados observados en los sustratos biopoliméricos, especialmente en términos de la formación de biopelículas y la capacidad de metabolizar sustratos derivados de desechos de cultivos de yuca. La discusión de la formación de biopelículas se enriquece al considerar la capacidad de la cepa para colonizar y adaptarse en diferentes condiciones como se detalla más adelante.

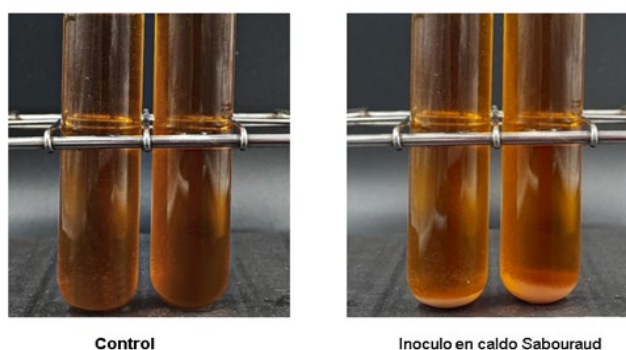


Figura 2. Siembra en medio líquido, el control corresponde a caldo Sabouraud sin inocular y medio inoculado con la levadura *S. cerevisiae* ATCC 9763. **Fuente:** Elaboración propia.

La caracterización microscópica de *Saccharomyces cerevisiae* mediante la tinción de Gram, como se ilustra en la Figura 3, proporcionó una comprensión detallada de la morfología celular de esta levadura. Bajo la tinción de Gram, las células de *S. cerevisiae* captaron un color púrpura propio de las bacterias Grampositivas, debido a la retención del cristal violeta en su pared celular [12-13]. Se evidenció que las levaduras son esféricas u ovaladas, con un diámetro de aproximadamente 4 a 6 micrómetros, rasgos distintivos e importantes para su identificación. Además, se observó la capacidad de *S. cerevisiae* para desarrollar estructuras como pseudohifas, las cuales, son cadenas de yemas (gemantes) alargadas, o blastoconidios; las tabicaciones entre células se constriñen y desarrollan bajo condiciones específicas, como capacidad de adaptación [14].

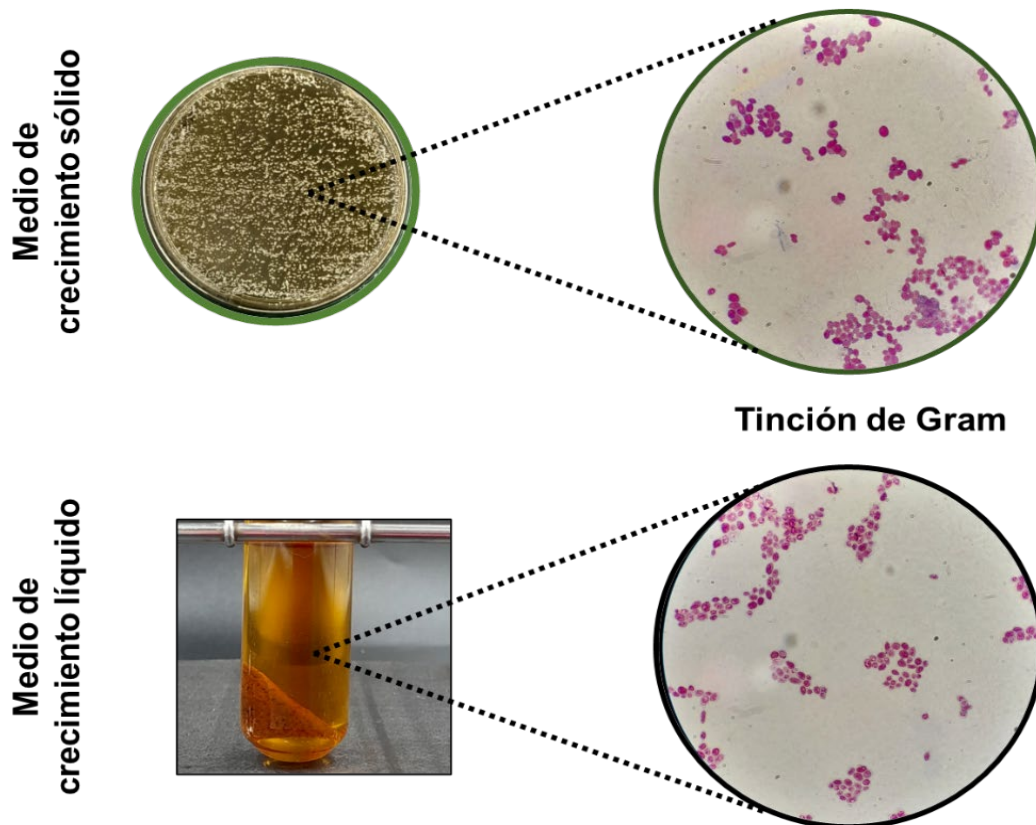


Figura 3. Caracterización de *S. cerevisiae* por tinción de Gram tanto en medio sólido como líquido. **Fuente:** Elaboración propia.

Los resultados exhibidos en la Figura 4. Muestra que una vez incubadas las placas y pasadas las 24 horas se presentó un crecimiento del microorganismo en toda la placa. BP y BB tanto en medio sólido como en medio líquido, conservaron las propiedades estructurales mientras que el B(h+t) presentó cambios en la consistencia del sustrato con una textura más blanda.

Este fenómeno sugiere alteraciones en la matriz polimérica del material, posiblemente relacionadas con procesos de degradación parcial o modificaciones en la estructura molecular, los cuales podrían ser atribuidos a la actividad metabólica de *S. cerevisiae* en interacción con el sustrato biopolimérico. Esta transformación en la consistencia de biomateriales podría ser el resultado de procesos microbiológicos que implican la liberación de enzimas extracelulares y metabolitos, conduciendo a cambios físicos observables en el material a nivel macroscópico [15].

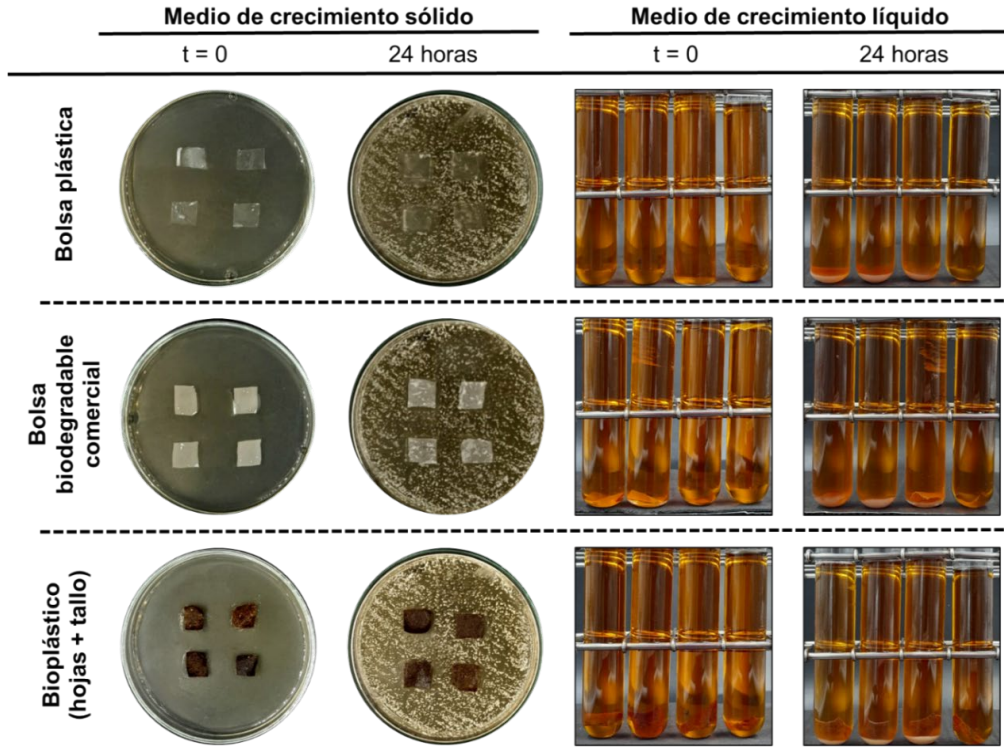


Figura 4. Crecimiento de *S. cerevisiae* en presencia de los sustratos poliméricos en medio sólido y líquido.
Fuente: Elaboración propia.

Los datos reportados en la Tabla 1 y Figura 5, muestra los resultados obtenidos de la evaluación del crecimiento de *S. cerevisiae* en medio líquido utilizando diferentes sustratos poliméricos, comparando los resultados con un control positivo. Los datos presentados muestran las absorbancias y densidades celulares a lo largo del tiempo para cada sustrato.

Para el control positivo, se observa un crecimiento significativo de *S. cerevisiae* a lo largo del tiempo. La absorbancia y la densidad celular aumentan de manera constante hasta alcanzar un pico a las 24 horas. Posteriormente, se observa una disminución en la absorbancia y densidad celular, indicando posiblemente una fase estacionaria o de declive celular.

Tabla 1. Valores del crecimiento de *S. cerevisiae* en medio líquido del control positivo y los sustratos poliméricos en función del tiempo, las absorbancias y la densidad celular, basados en la escala de McFarland.

Tiempo (horas)	Control positivo		Bolsa plástica		Bolsa biodegradable comercial		Bioplástico (h+t)	
	Abs	Densidad celular (1x10 ⁸ UFC/ml)	Abs	Densidad celular (1x10 ⁸ UFC/ml)	Abs	Densidad celular (1x10 ⁸ UFC/ml)	Abs	Densidad celular (1x10 ⁸ UFC/ml)
0	0,037	0,1	0,055	0,4	0,053	0,4	0,048	0,3
4	0,153	2,1	0,170	2,4	0,176	2,5	0,177	2,5
8	0,548	8,8	0,440	7,0	0,517	8,3	0,515	8,2
12	1,443	24,0	1,420	23,6	1,430	23,8	1,366	22,7
24	1,718	28,7	1,845	30,9	1,736	29,0	1,654	27,6
28	1,614	26,9	1,832	30,6	1,727	28,8	1,714	28,6
32	1,257	20,9	1,734	29,0	1,513	25,2	1,435	23,9
36	0,736	12,0	0,862	14,1	0,445	7,0	0,561	9,0
48	0,342	5,3	0,533	8,5	0,255	3,8	0,255	3,8

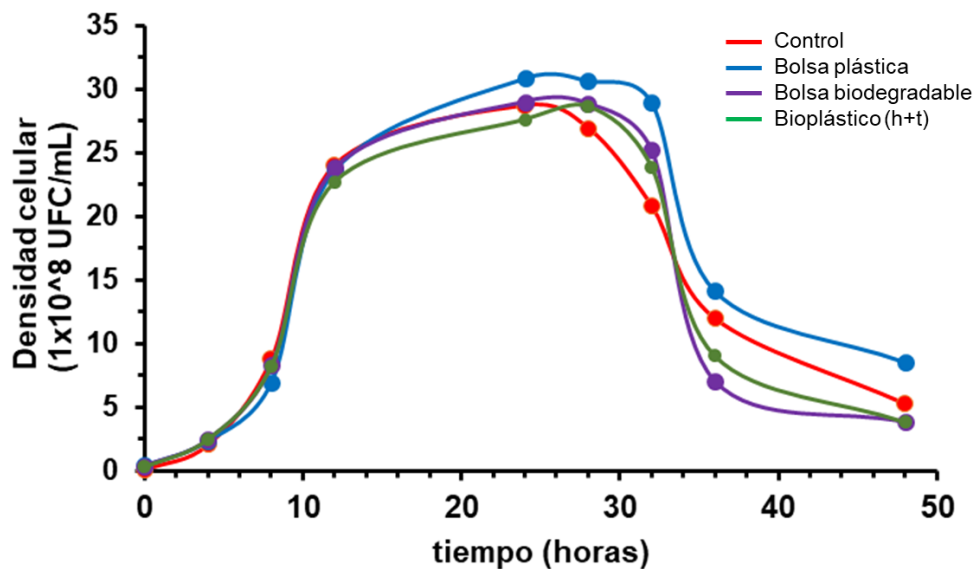


Figura 5. Curva de crecimiento en función del tiempo y la densidad celular del control positivo y los sustratos poliméricos. **Fuente:** Elaboración propia.

El B(h+t) muestra una característica ventajosa notable al mantener una tasa de crecimiento constante y estabilidad en la formación de biopelículas. La disminución menos pronunciada después de las 32 horas sugiere una interacción sostenible entre *S. cerevisiae* y este sustrato, destacando su idoneidad para aplicaciones biotecnológicas sostenibles. Los resultados apuntan a la importancia de la elección del sustrato en la capacidad de *S. cerevisiae* para crecer y formar biopelículas.

La BP y BB muestran una tendencia a la disminución más marcada, lo que podría afectar su viabilidad a largo plazo. La formación de biopelículas, aunque no evaluada directamente en los datos numéricos, puede relacionarse con la estabilidad observada en la absorbancia y densidad celular. La estabilidad podría indicar una interacción sostenida entre el sustrato y la levadura. En general, el B(h+t) destaca como un sustrato prometedor mostrando ventajas en términos de estabilidad y sostenibilidad en el crecimiento de *S. cerevisiae*. Se destaca la capacidad de *S. cerevisiae* para crecer y metabolizar sustratos biopoliméricos derivados de desechos agroindustriales de cultivos de yuca [16]. De manera más general, estos resultados indican que el B(h+t) presenta ventajas notables en comparación con otros sustratos evaluados. Podemos concluir que todos los sustratos promueven el crecimiento de *S. cerevisiae*, siendo más pronunciado en las primeras 24 - 32 horas. En resumen, el Bioplástico (h+t) presenta ventajas en términos de una tasa de crecimiento sostenida, densidad celular relativamente alta y una tendencia a la estabilidad, lo que lo hace un muy buen candidato para aplicaciones microbiológicas y biotecnológicas.

La investigación proporcionó una caracterización precisa de la cepa de levadura *S. cerevisiae*, evaluó su desempeño en materiales poliméricos y biopoliméricos y analizó la interacción sustrato-microorganismo, contribuyendo al entendimiento de las capacidades metabólicas de *S. cerevisiae* en entornos biopoliméricos y destacando el potencial del B(h+t). Adicionalmente, es importante tener en cuenta aspectos clave como el metabolismo específico, que nos permite entender la posible influencia de los componentes específicos de cada sustrato biopolimérico en las vías metabólicas de *S. cerevisiae*; cómo la levadura podría estar aprovechando distintos nutrientes presentes en los sustratos, generando así variaciones en el crecimiento [17]. Es importante también profundizar en las posibles razones detrás de las desaceleraciones observadas en el crecimiento después de ciertos periodos, para examinar factores como agotamiento de nutrientes, acumulación de productos metabólicos o cambios en la composición del medio. Un análisis de estrés ambiental, por otro lado, permitiría conocer la posibilidad de que algunos sustratos puedan imponer cierto estrés a la cepa, detallando cómo la levadura responde a estos factores [18].

Por otra parte, se realizó una caracterización visual a una resolución de 10x pasadas 24 horas, tanto en el medio sólido como en el líquido. Se tomó como referencia el material sin inocular y posterior a ello la comparación en los diferentes medios, como se puede observar en la figura 6; se observó cambio a lo largo de todos los materiales con un cambio considerable en opacidad y la posible formación de una capa en la superficie de todos los sustratos, evento más notorio en medio líquido. Esta capa puede ser estudiada como la formación de una biopelícula. Las biopelículas son comunidades microbianas que se desarrollan en superficies y pueden causar cambios visuales y estructurales en los materiales, es posible que la levadura *S. cerevisiae* haya producido enzimas o metabolitos que descompusieron los materiales [19]. En el caso particular de BB y B(h+t) lo que indica es la capacidad de utilizar el almidón de maíz como fuente de carbono.

Microscopía óptica 10x

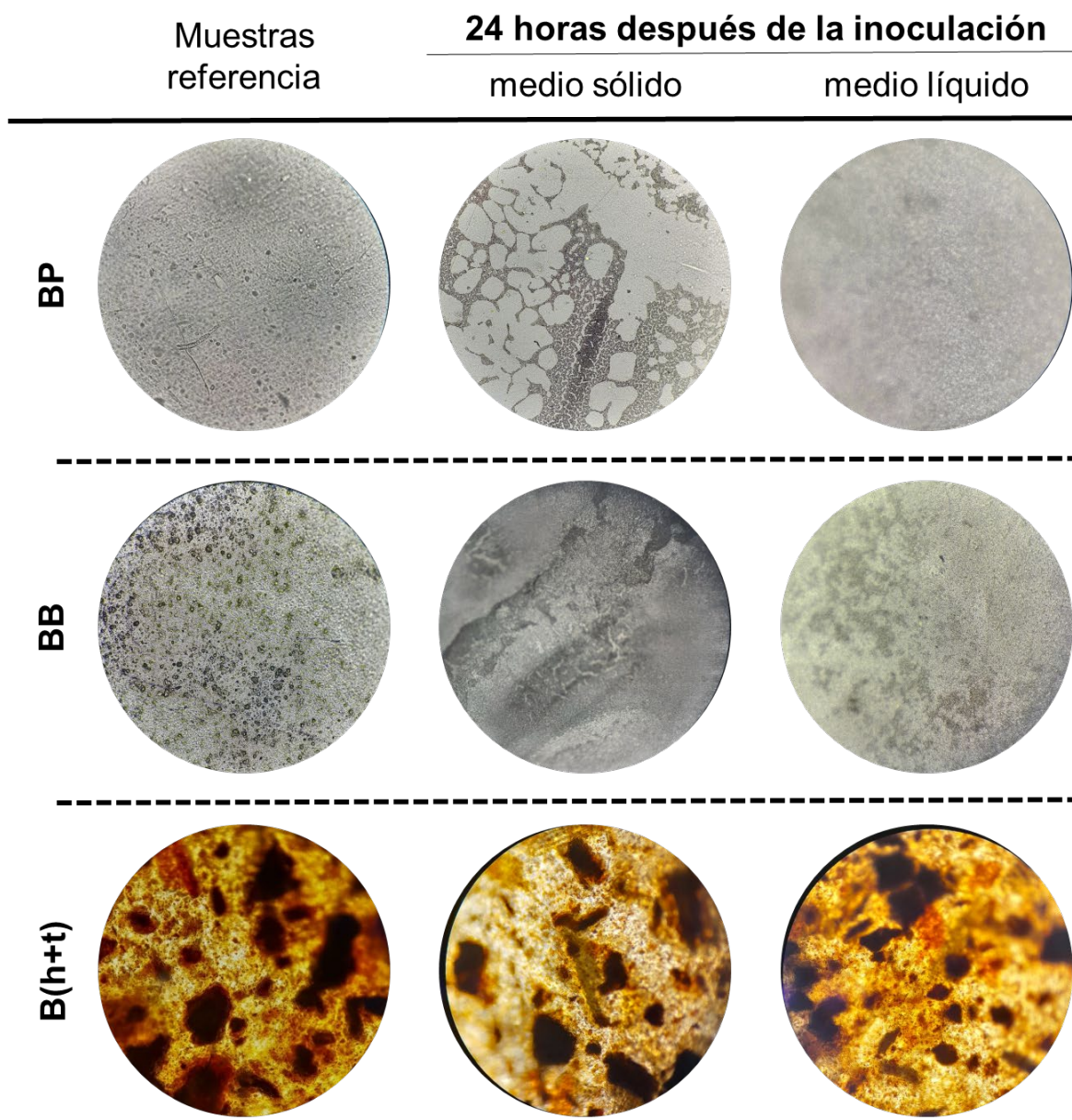


Figura 6. Microscopía óptica de los sustratos poliméricos 24 horas después de la inoculación en medio líquido y sólido. **Fuente:** Elaboración propia.

Como se menciona en la metodología, se empleó la gravimetría con el objetivo de explorar la capacidad de crecimiento de *S. cerevisiae* en estos sustratos y su influencia en la pérdida de peso. Los datos se registraron en la tabla 2.

Tabla 2. Valoración gravimétrica de los sustratos poliméricos mediante la pérdida de peso.

	Muestra	Peso inicial (g)	Peso final (g)	Porcentaje de pérdida de peso (%)
Medio de crecimiento sólido	BP	0,0042 ± 0,0003	0,0039 ± 0,0002	8,3
	BB	0,0033 ± 0,0002	0,0031 ± 0,0002	5,1
	B(h+t)	0,0466 ± 0,0009	0,0381 ± 0,0006	18,2
Medio de crecimiento líquido	BP	0,0045 ± 0,0002	0,0038 ± 0,0004	15,5
	BB	0,0034 ± 0,0004	0,0029 ± 0,0006	15,0
	B(h+t)	0,0453 ± 0,0006	0,0366 ± 0,0023	19,2

En el medio sólido BP y BB mostraron una pérdida de peso del 8,3 % y 5,1 % respectivamente, sin embargo, B(h+t) exhibió la mayor pérdida de peso, alcanzando un 18,2 %. Este resultado sugiere un crecimiento más significativo de *S. cerevisiae* en el bioplástico en comparación con los otros materiales. La naturaleza del bioplástico sintetizado a partir de almidón lo convierte en una fuente potencial de carbono y energía para las levaduras. La alta pérdida de peso observada en B(h+t) apunta a la utilización de este material como sustrato nutricional. Es relevante destacar que la pérdida de peso, aunque no es un indicador directo de biodegradación, proporciona evidencia de la capacidad de *S. cerevisiae* para utilizar estos materiales poliméricos como fuentes de carbono y energía [20].

En el medio líquido, se observaron patrones de pérdida de peso y crecimiento similares a los del medio sólido, lo que respalda la hipótesis de que *S. cerevisiae* puede degradar y utilizar estos materiales en condiciones tanto sólidas como líquidas. En el caso específico del medio líquido, el sistema completo es un entorno más homogéneo donde la superficie de contacto es mayor y la levadura podría haber tenido un acceso más fácil a los nutrientes presentes en el, como consecuencia los porcentajes de pérdida de peso aumentaron a 15,5 % 15,0 % y 19,2 % respectivamente para los materiales.

Los resultados sugieren que la interacción microorganismo-material esta relacionada con la perdida de peso de los sustratos por procesos de degradación que empiezan con la formación de estructuras multicelulares sobre la superficie de los materiales llamadas biopelículas. La capacidad de *S. cerevisiae* para metabolizar sustratos de naturaleza *bio-* resalta su potencial en la gestión de residuos, especialmente aquellos derivados de desechos agroindustriales, lo cual es un indicador posibles aplicaciones en la biodegradación y aprovechamiento de residuos a través de la actividad metabólica de la levadura, posicionando a la levadura como un candidato prometedor para estrategias sostenibles de biodegradación y aprovechamiento de residuos orgánicos.

3.1 Análisis de crecimiento de *S.cerevisiae* sobre sustratos poliméricos mediante espectroscopia de infrarrojo FTIR-ATR

La formación de biopelículas en *Saccharomyces cerevisiae* es el primer paso clave en la creación de estructuras multicelulares llamadas biofilms. Inicia cuando las células de levadura se pegan a una superficie sólida, ayudadas por proteínas de su superficie y adhesinas. Una vez unidas, las células generan una especie de pegamento biológico compuesto por sustancias como polisacáridos y proteínas. Esto mantiene unidas a las células y les permite trabajar juntas. Este biofilm actúa como una plataforma para que la comunidad de levadura crezca y se desarrolle con diferentes células asumiendo funciones específicas. Además de su función estructural, el biofilm protege a las células de condiciones difíciles y las hace más resistentes a sustancias antimicrobianas [21].

El estudio de las biopelículas es fundamental, ya que una vez establecidas, se pueden aprovechar en aplicaciones prácticas, como promover el compostaje de materiales biodegradables. Este enfoque no solo reduce la cantidad de residuos, sino que también ayuda a gestionar los desechos orgánicos de una manera más amigable con el

medio ambiente, mejorando la circulación de nutrientes en la naturaleza. Cuando las biopelículas están presentes también pueden desempeñar un papel en la mejora de la calidad del suelo. Las comunidades microbianas dentro de estas biopelículas pueden acelerar la descomposición de materiales biodegradables en el suelo, liberando nutrientes esenciales para las plantas y, en última instancia, mejorando la fertilidad del suelo. Este conocimiento no solo es valioso en la gestión de residuos, sino que también tiene un impacto positivo en la agricultura y en la sostenibilidad ambiental en general [22].

El estudio de crecimiento de la cepa *S. cerevisiae* sobre distintos sustratos poliméricos mediante espectroscopia infrarroja inicio con la comparación entre los sustratos poliméricos de referencia (blanco) y el análisis de los espectros después de la inoculación por 24 horas en cada caso. Esta técnica, permite el análisis de las muestras de manera sencilla; es versátil, no destructiva, se puede aplicar independientemente del estado, es decir, si son sólidas, líquidas, gaseosas, fibras, polvos, entre otras. Los espectros de infrarrojo son el resultado de someter la muestra a radiación infrarroja para provocar alteraciones en los modos vibracionales de las diferentes moléculas, los cuales son únicos para cada tipo de enlace en alguna parte del espectro electromagnético. De esta manera los espectros de IR se pueden usar como “huellas dactilares” en la identificación de muestras desconocidas mediante la comparación con espectros de referencia.

En este orden de ideas, el análisis de crecimiento de este tipo de organismos sobre los distintos sustratos poliméricos busca entonces lograr identificar señales que permitan inferir la formación de biofilm sobre ellos como primer paso para la colonización y posterior desarrollo de procesos de degradación [23]. La Figura 7 muestra la comparación entre los espectros de infrarrojo blancos y después estar en contacto con la cepa *S. cerevisiae*, para cada uno de los tres materiales. En cada caso de los espectros referencia se procedió a realizar la asignación de las señales de vibración correspondiente.

Las bandas de vibración para BP, ver Figura 7A, empleada como referencia, corresponde a PVC flexible, es decir, en la manufactura de este tipo de materiales se suele adicionar sustancias plastificantes como el DOP también conocido como ftalato de dioctilo, este reactivo mejora las propiedades mecánicas de tracción y flexión, además, de la estabilidad al calor y a la luz ultravioleta. Por lo tanto, el espectro exhibe las bandas características del PVC (policloruro de vinilo) como: **(1,2)** 2912 y 2843 cm^{-1} (estiramiento de -CH y -CH₂), **(3,4)** 1464 y 1371 cm^{-1} (flexión de -CH y -CH₂), **(5)** 1020 cm^{-1} (estiramiento de C-C), **(6)** 956 cm^{-1} (flexión -CH₂), y **(7)** 712 cm^{-1} (estiramiento C-Cl) [24]. Del plastificante al ser un ftalato se espera la vibración de tensión correspondiente al grupo carbonilo (C=O) en **(8)** 1745 cm^{-1} y **(9)** 1216 cm^{-1} del enlace (-C-O-C) [25].

En el caso de BB, ver Figura 7B, la banda de absorción a aproximadamente **(1*)** 3304 cm^{-1} está asociada con la vibración de estiramiento del enlace (O-H) de los grupos (-OH) unidos intra e intermolecularmente presentes en el almidón y el plastificante empleado. La banda a aproximadamente **(2*)** 2912 y 2841 cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento del enlace (-CH) en grupos alifáticos metilo (-CH₃), metileno (-CH₂). El fuerte pico a **(3*)** 1714 cm^{-1} se atribuye al estiramiento vibracional del grupo carbonilo (-C=O). Las bandas entre el rango de **(4*)** 1500 a 1300 cm^{-1} podrían atribuirse a múltiples modos de vibración de flexión (-CH) y (-OH). Las bandas en **(5*)** 1095 y 1035 cm^{-1} se pueden asignar a la vibración de estiramiento del enlace -C-O en los grupos funcionales (-C-O-C-). La banda a **(6*)** 928 cm^{-1} representa vibración de flexión (C-O-H) desde el enlace glicosídico, y el pico a **(7*)** 730 cm^{-1} indica una deformación simétrica de (-CH y CH₂) en el almidón [26,27].

Por otra parte, B(h+t), ver figura 7C, los materiales de naturaleza biopolimérica muestran señales similares alrededor de **(a)** 3304 cm^{-1} asociada con la vibración de estiramiento del enlace (O-H) de los grupos (-OH) unidos intra e intermolecularmente presentes en el almidón y el plastificante empleado, para los enlaces -CH y -CH₂ a 2915 cm^{-1} **(b)**, **(c)** 1714 cm^{-1} se atribuye al estiramiento (-C=O), la banda a **(d)** 1420 cm^{-1} corresponde a la vibración de flexión de los grupos -CH₂ y -CH, en la región de 1300 a 600 cm^{-1} la asignación para sustratos tan complejos es más difícil pero se reporta que en la literatura la vibración de la cadena lateral de la glucosa (-CH₂-OH) a 1346 cm^{-1} , en la piranosa el enlace (C-O) a 1170 cm^{-1} , (C-C) a 1079 cm^{-1} y la vibración de flexión (C-O-H) a 992 cm^{-1} desde el enlace glicosídico [28,29,30,31,32].

Para los espectros de respuesta después del crecimiento de la cepa, el BB hace un cambio radical en el espectro, todas las señales desaparecen mostrando un cambio en dos rangos 1700 a 1400 cm^{-1} , y alrededor de los 1100 cm^{-1} . El cambio en el espectro de B(h+t) no es tan perceptible dado la complejidad del material. Sin embargo, el rango espectral donde se observaron los cambios más notables para todos los materiales fue entre 1800 a 1300

cm⁻¹, ver tabla 3, lugar en donde se espera la vibración del enlace para los enlaces (-N-H) y del grupo carbonilo (-C=O) de enlaces amida y amina propias de moléculas como lípidos, aminoácidos, péptidos, fosfolípidos presentes en una biopelícula. En este rango es posible concluir que las señales en el espectro de respuesta para B(h+t) exhibió un corrimiento de máximos a longitudes de onda más propias de las moléculas anteriormente mencionadas [33].

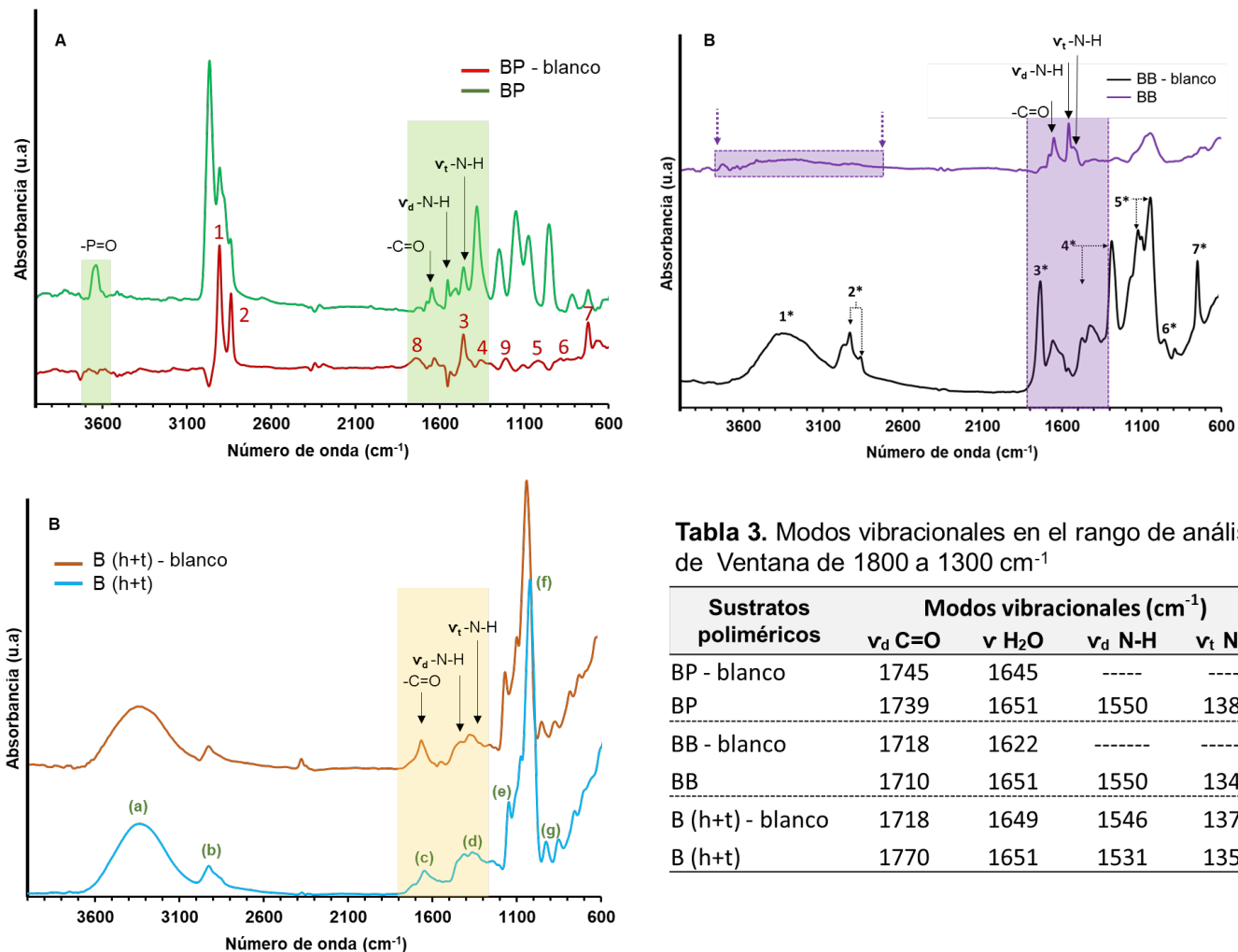


Tabla 3. Modos vibracionales en el rango de análisis de Ventana de 1800 a 1300 cm⁻¹

Sustratos poliméricos	Modos vibracionales (cm ⁻¹)			
	v _d C=O	v H ₂ O	v _d N-H	v _t N-H
BP - blanco	1745	1645	-----	-----
BP	1739	1651	1550	1388
BB - blanco	1718	1622	-----	-----
BB	1710	1651	1550	1342
B (h+t) - blanco	1718	1649	1546	1370
B (h+t)	1770	1651	1531	1359

Figura 7. Análisis de crecimiento por espectroscopia de infrarrojo FTIR para la comparación de espectros de materiales referencia “blancos” y materiales después del contacto con *S. cerevisiae* **A)** BP, **B)** BB y **C)** B(h+t). **Fuente:** Elaboración propia

4. CONCLUSIONES

Se logro aislar y caracterizar la cepa *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 en dos medios de cultivo y corroborado mediante tinción de Gram e imágenes ópticas. Fue posible demostrar el crecimiento de la cepa sobre tres materiales de estudios Bolsa plástica, Bolsa biodegradable y Bioplástico (hojas + tallo); en medio de cultivo líquido se evaluó la cinética de crecimiento para el microorganismo y las muestras siendo exponencial en un periodo de 24 - 28 horas con una densidad celular cercana a 29 x 10⁸ UFC/ml. Por otra parte, las imágenes de microscopia óptica brindaron información respecto a la deposición de una capa sobre la superficie de los materiales que sugiero la formación de una biopelícula que seria el primer paso de colonización microbiana y posiblemente el comienzo de procesos de degradación. Esta hipótesis se respaldó con la determinación del porcentaje de perdida de masa, el cual fue mayor en el material de interés B(h+t); por su naturaleza biopolimérica este material tiene las condiciones adecuadas para que la cepa pueda metabolizarlo. Aunque los resultados son

alentadores, se reconocen posibles desafíos y áreas de incertidumbre. Estos podrían incluir la necesidad de optimización de condiciones de cultivo, análisis más detallados de productos metabólicos y una comprensión más profunda de la regulación génica en presencia de estos sustratos. La herramienta de espectroscopia infrarroja FTIR se puede emplear como para el estudio de las interacciones químicas entre sustrato y microorganismos con a lo largo del espectro, sin embargo, el rango entre 1800 a 1300 cm^{-1} permitió observar cambios del espectro donde se identificaron señales correspondientes a los enlaces ν_d C=O y N-H y ν_t N-H de peptidoglucano depositado como biopelícula en los materiales.

Este estudio contribuye a la comprensión general de la capacidad de *S. cerevisiae* para interactuar con sustratos biopoliméricos, abriendo la puerta a futuras investigaciones que podrían profundizar en aspectos específicos de la respuesta metabólica y genética de la levadura. En resumen, los resultados de este estudio respaldan la hipótesis inicial y proporcionan una base sólida para avanzar en investigaciones adicionales y aplicaciones prácticas en el ámbito de la microbiología y la biotecnología. La adaptabilidad y eficiencia demostradas de *S. cerevisiae* en este contexto específico ofrecen perspectivas emocionantes para el desarrollo de estrategias sostenibles y eficaces en la gestión de residuos biopoliméricos. De forma global y satisfactoria, los resultados se orientan en respaldar y responder de forma positiva a la pregunta de investigación formulada previamente a este estudio: ¿Tiene *S. cerevisiae* la capacidad de crecer y metabolizar sustratos biopoliméricos elaborados a partir de los desechos agroindustriales de cultivos de yuca? Sí, la tiene.

5. AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a la Universidad Santiago de Cali, por brindarme la infraestructura y recursos necesarios para llevar a cabo esta investigación. A mis tutoras, Sixta Palencia Luna y Viviana Garcés Villegas, les agradezco por su orientación experta y apoyo constante a lo largo de este proceso. Agradezco a la empresa Mindtech S.A.S por su valiosa colaboración y apoyo, que ha enriquecido este proyecto. A mis compañeros de carrera, gracias por ser parte de este viaje y compartir experiencias que enriquecieron mi camino académico. A mi familia y seres queridos, les estoy profundamente agradecido por su inquebrantable apoyo y amor, que me han impulsado en cada paso de este camino.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] Alabi, O. A., Ologbonjaye, K. I., Awosolu, O. *et al.* (2019). Public and environmental health effects of plastic wastes disposal: a review. *J Toxicol Risk Assess*, 5(021), 1-13. <http://doi.org/10.23937/2572-4061.1510021>
- [2] Alvares Mamani, M. M., Rojas, C., Loiseunice, I. (2019). Estudio bibliográfico preliminar para la producción de plásticos biodegradables a partir de harina de yuca, 1-80. <http://repositorio.ucsp.edu.pe/handle/UCSP/16051>
- [3] Riba L. I, Ochoa Yepes O. J, Darío Díaz E. *et al.* (2020). Alternativas a los plásticos convencionales: las dos caras de los plásticos verdes. Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 1-15. <http://hdl.handle.net/11336/146144>
- [4] Bedoya Molina J. M, Cuellar Escobar K, Orozco García C. A. (2022). Estudio de validación de la iniciativa emprendedora de comercialización de bolsas de bioplástico a partir de almidón de yuca para la recolección de excremento canino en la ciudad de Pereira. Universidad Católica de Pereira, 1-58. <http://hdl.handle.net/10785/12160>
- [5] Torres Ibañez M. M. (2020). Efecto de cinco fórmulas de abonamiento en el rendimiento de dos variedades de yuca (*Manihot esculenta Crantz*) en un suelo ácido en Tingo María. Universidad Nacional Agraria de la selva, 1-152. <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/1877>
- [6] Martín, C., Wei, M., Xiong, S. *et al.* (2017). Enhancing saccharification of cassava stems by starch hydrolysis prior to pretreatment. *Industrial crops and products*, 97, 21-31. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.11.067>

- [7] Thuppahige, V. T. W., Moghaddam, L., Welsh, Z. G. *et al.* (2023). Investigation of critical properties of Cassava (*Manihot esculenta*) peel and bagasse as starch-rich fibrous agro-industrial wastes for biodegradable food packaging. *Food Chemistry*, 422, 136200. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136200>
- [8] Del Rio Osorio, L. L., David Grande-Tovar, C. (2021). Valorización de residuos industriales en la producción de almidón de yuca. *Prospectiva (1692-8261)*, 19(2). <https://doi.org/10.15665/rp.v19i2.2556>
- [9] Kwanyun, P., Praditwattana, N., Phutthimethakul. *et al.* (2023). Characteristics of Soil Amendment Material from Food Waste Disposed of in Bioplastic Bags. *Fermentation*, 9(2), 97. <https://doi.org/10.3390/fermentation9020097>
- [10] Suárez-Machín, C., Garrido-Carralero, N. A., Guevara-Rodríguez, C. A. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 50(1), 20-28. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223148420004>
- [11] Peris Navarro D, Pérez Torrado R, Hittinger C. T, Barrio E, Querol A. On the origins and industrial applications of *Saccharomyces cerevisiae* × *Saccharomyces kudriavzevii* hybrids. 2017: 1-36. <https://doi.org/10.1002/yea.3283>
- [12] Walteros Pinzón, C. D. (2020). Caracterización de cepas de levadura colombiana *Saccharomyces cerevisiae* para su potencial uso en la producción de cerveza" Colombian Ale". Universidad de los Andes. <http://hdl.handle.net/1992/44911>
- [13] Reis, V. R., Bassi, A. P. G., Silva. *et al.* (2013). Characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* yeasts exhibiting rough colonies and pseudohyphal morphology with respect to alcoholic fermentation. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44, 1121-1131. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014005000020>
- [14] Pilco, C. J., Mejía, C. M., Toalombo, R. M. *et al.* (2023). Identificación y cuantificación de levaduras *Saccharomyces Cerevisiae* en la fermentación de mostos de vinos: Identification and quantification of *Saccharomyces Cerevisiae* yeasts in the fermentation of wine musts. *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades*, 4(1), 2430-2445. <https://doi.org/10.56712/latam.v4i1.427>
- [15] Bolanos-Barbosa, A. D., Rodríguez, C. F., Acuña, O. L. *et al.* (2023). The Impact of Yeast Encapsulation in Wort Fermentation and Beer Flavor Profile. *Polymers*, 15(7), 1742. <https://doi.org/10.3390/polym15071742>
- [16] Romo-Buchelly, J., Rodríguez-Torres, M., Orozco-Sánchez, F. (2019). Biotechnological valorization of agro industrial and household wastes for lactic acid production. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(1), 113-127. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.69284>
- [17] Recek, N., Zhou, R., Zhou, R. *et al.* (2018). Improved fermentation efficiency of *S. cerevisiae* by changing glycolytic metabolic pathways with plasma agitation. *Sci Rep* 8, 8252. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26227-5>
- [18] Li, B., Liu, N., Zhao, X. (2022). Response mechanisms of *Saccharomyces cerevisiae* to the stress factors present in lignocellulose hydrolysate and strategies for constructing robust strains. *Biotechnology for Biofuels and Bioproducts*, 15(1), 28. <https://doi.org/10.1186/s13068-022-02127-9>
- [19] Penesyan, A., Paulsen, I.T., Kjelleberg, S. *et al.* (2021). Three faces of biofilms: a microbial lifestyle, a nascent multicellular organism, and an incubator for diversity. *npj Biofilms Microbiomes* 7, 80. <https://doi.org/10.1038/s41522-021-00251-2>
- [20] Caballero-Sanchez, L., Lázaro-Mixteco, P.E., Vargas-Tah, A. *et al.* (2023). Pilot-scale bioethanol production from the starch of avocado seeds using a combination of dilute acid-based hydrolysis and alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Microb Cell Fact* 22, 119. <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02110-5>
- [21] SPERANZA, Barbara, et al. Biofilm formation by potentially probiotic *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Food microbiology*, 2020, vol. 87, p. 103393. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2019.103393>

- [22] BOJSEN, Rasmus K.; ANDERSEN, Kaj Scherz; REGENBERG, Birgitte. *Saccharomyces cerevisiae*—a model to uncover molecular mechanisms for yeast biofilm biology. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 2012, vol. 65, no 2, p. 169-182. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2012.00943.x>
- [23] Sampaio, P. N. S., Calado, C. R. C. (2017). Comparative analysis of different transformed *Saccharomyces cerevisiae* strains based on high-throughput Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of biotechnology*, 260, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.08.020>
- [24] Fan, C., Huang, Y. Z., Lin, J. N., Li, J. (2021). Microplastic constituent identification from admixtures by Fourier-transform infrared (FTIR) spectroscopy: The use of polyethylene terephthalate (PET), polyethylene (PE), polypropylene (PP), polyvinyl chloride (PVC) and nylon (NY) as the model constituents. *Environmental Technology & Innovation*, 23, 101798. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101798>
- [25] Nguyen, T. D., Nguyen, C. T., Tran, V. T. T. *et al.* (2018). Enhancement of the thermomechanical properties of a fly ash-and carbon black-filled polyvinyl chloride composite by using epoxidized soybean oil as a secondary bioplasticizer. *International Journal of Polymer Science*, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2018/8428736>
- [26] Othman, S. H., Nordin, N., Azman, N. A. A *et al.* (2021). Effects of nanocellulose fiber and thymol on mechanical, thermal, and barrier properties of corn starch films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 1352-1361. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.082>
- [27] Liang, R., Liang, Q., Li, Z., *et al.* (2021). Assessment of the thermal hazards and oxidization mechanism of coloured corn starch dust by TG–FTIR. *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, 69, 104380. <https://doi.org/10.1016/j.jlp.2020.104380>
- [28] Ren F, Wang J, Yu J, *et al.* (2022). Green synthesis of acetylated maize starch in different imidazolium carboxylate and choline carboxylate ionic liquids. *Carbohydrate Polymers*, 288, 119353. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119353>
- [29] Garcés V, García-Quintero A, Lerma T.A, Palencia M, *et al.* Characterization of Cassava Starch and Its Structural Changes Resulting of Thermal Stress by Functionally-Enhanced Derivative Spectroscopy (FEDS). *Polysaccharides*. 2021; 2(4):866-877. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2040052>
- [30] Teixeira S.C, Silva R.R.A, de Oliveira T.V, *et al.* (2021). Glycerol and triethyl citrate plasticizer effects on molecular, thermal, mechanical, and barrier properties of cellulose acetate films. *Food Bioscience*, 42, 101202. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101202>
- [31] Yang H, Yi N, Zhao S, *et al.* (2021). Characterization of hemicellulose in Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) stem during xylogenesis. *Carbohydrate Polymers*, 264, 118038. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118038>
- [32] Gómez-Siurana A, Marcilla A, Beltrán M, *et al.* (2013). TGA/FTIR study of tobacco and glycerol–tobacco mixtures. *Thermochimica Acta*, 573, 146-157. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2013.09.007>
- [33] Palencia, S. L., García, A., Palencia, M. (2022). Multiple surface interaction mechanisms direct the anchoring, co-aggregation and formation of dual-species biofilm between *Candida albicans* and *Helicobacter pylori*. *Journal of Advanced Research*, 35, 169-185. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2021.03.013>