

**MODIFICACIÓN DE FIBRAS DE AGAVE PARA
SU USO EN LA FORMULACIÓN DE UN MATERIAL COMPUESTO
BIODEGRADABLE**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN BIOTECNOLÓGICA

PRESENTA

ALEXA LÁZARO ROMERO

DOCTORA SILVIA MARIBEL CONTRERAS RAMOS

DOCTORA LORENA AMAYA DELGADO

DOCTOR JESÚS BERNARDINO VELÁZQUEZ FERNÁNDEZ

GUADALAJARA, JALISCO, OCTUBRE, 2022

Guadalajara, Jalisco a 06 de septiembre de 2022

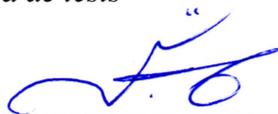
CONSEJO INSTITUCIONAL DE POSGRADO
DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ASISTENCIA EN TECNOLOGÍA Y DISEÑO
DEL ESTADO DE JALISCO, A.C.
PRESENTE

Los abajo firmantes miembros del comité tutorial de la estudiante **Alexa Lázaro Romero**, una vez leída y revisada la Tesis titulada “MODIFICACIÓN DE FIBRAS DE AGAVE PARA SU USO EN LA FORMULACIÓN DE UN MATERIAL COMPUESTO BIODEGRADABLE” aceptamos que la referida tesis revisada y corregida sea presentada por la estudiante para aspirar al grado de Maestro en Ciencias En Innovación Biotecnológica durante el examen correspondiente.

Y para que así conste firmamos la presente al día seis del mes de septiembre del año dos mil veintidós.



Doctora Silvia Maribel Contreras Ramos
Directora de tesis



Doctora Lorena Amaya Delgado
Co-Director de tesis



Doctor Jesús Bernardino Velázquez Fernández
Asesor



GOBIERNO DE
MÉXICO



CONACYT
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología



Guadalajara, Jalisco, a 10 de octubre de 2022
Ref. CP/1454/2022

ALEXA LÁZARO ROMERO
ESTUDIANTE DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS EN INNOVACIÓN BIOTECNOLÓGICA
NÚMERO DE MATRÍCULA 2003CA6509
PRESENTE

Por este medio le informo que el trabajo de tesis **“Modificación de fibras de agave para su uso en la formulación de un material compuesto biodegradable”** desarrollado bajo la dirección del siguiente comité tutorial:

Dra. Silvia Maribel Contreras Ramos. Directora de tesis
Dra. Lorena Amaya Delgado. Co-directora de tesis
Dr. Jesús Bernardino Velázquez Fernández. Asesor de tesis

ha sido aprobado para su impresión definitiva y defensa correspondiente para la obtención de grado de Maestra en Ciencias en Innovación Biotecnológica.

Sin otro particular, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

Dra. Erika Nahomy Marino Marmolejo
Directora Adjunta de Investigación y Posgrado



Agradecimientos

Este trabajo está dedicado a mis padres, por brindarme su confianza y apoyo para lograr una de mis tantas metas. Así como por siempre creer en mí.

Gracias a mis directores de tesis la Dra. Silvia Maribel Contreras, la Dra. Lorena Amaya y el Dr. Jesús Bernardino Velázquez por dedicarme tiempo, esfuerzo y mucha paciencia en este proceso. Sin su apoyo esto no hubiera sido posible.

Gracias a la Dra. Mariamne Dehonor por su apoyo en el análisis de las fibras de bagazo de agave con el análisis termogravimétrico y el análisis con microscopio electrónico de barrido.

Gracias a CONACYT por la beca otorgada para poder llevar a cabo este trabajo.

Muchas gracias a todos los que directa o indirectamente me han ayudado durante mis años en la maestría. Quiero agradecer también a mis amigos y compañeros de las unidades de biotecnología ambiental e industrial, que han estado ahí desde el principio, compartiendo buenos y malos momentos conmigo. Sin su ayuda, este viaje hubiera sido mucho más difícil. ¡Gracias a todos!

Resumen

Uno de los residuos agroindustriales más abundantes en el estado de Jalisco es el bagazo de agave. Este resulta del proceso de producción de tequila a partir de la planta *Agave tequilana* Weber var. azul. Por sus características químicas (alto porcentaje de celulosa) es un material que puede ser utilizado para reforzar materiales compuestos. Para este estudio se realizó la caracterización del bagazo y se le aplicaron diferentes pretratamientos para posteriormente mezclarlo con un biopolímero a base de almidón termoplástico (TPS) y ácido poli láctico (PLA).

Se investigó el efecto de 3 pretratamientos con diferentes condiciones en bagazo de agave: ácido (1%, 1.5% y 2% H_2SO_4), enzimático (1.5%, 3% y 4.5% HTec2 (solución de hemicelulasas y celulasas) y ácido-enzimático (1.5% H_2SO_4) y (1.5% HTec2).

Se encontró que el pretratamiento óptimo para obtener la mayor fracción de celulosa en el bagazo de agave fue el ácido al 1.5%, con este pretratamiento la fracción de celulosa aumentó 1.9 veces; mientras que la hemicelulosa disminuyó 30% en el pretratamiento ácido. El pretratamiento enzimático no tuvo un cambio sustancial en la estructura o composición, y disminuyó la estabilidad térmica de la fibra. Por otro lado, al utilizar el pretratamiento secuencial ácido-enzimático, las fracciones de celulosa y hemicelulosa disminuyeron. El análisis con FTIR confirmó la disminución de grupos hidroxilo en la fibra, lo cual puede mejorar la adhesión entre la fibra y la matriz polimérica de un compuesto.

Finalmente se comprobó la biodegradabilidad de los materiales formados con bagazo, TPS y PLA. Los biomateriales fueron colocados en ambientes en los que pudieran ser desechados (suelo y medio acuoso). Se comprobó que los materiales mezclados son biodegradables en diferentes porcentajes dependiendo de su composición, en suelo la mezcla de TPS y agave obtuvo el mayor porcentaje de biodegradabilidad, en medio acuoso el TPS solo obtuvo el mayor porcentaje de biodegradabilidad. La tasa de biodegradación fue expresada en porcentaje de carbono emitido en el caso de la composta y de demanda química de oxígeno (DQO) en el caso del medio acuoso.

Índice de Contenido

I.	Introducción	11
II.	Marco teórico	16
II.1	Polímero.....	16
II.2	Clases de polímeros	17
II.2.1	Polímeros inorgánicos	17
II.2.2	Polímeros orgánicos	17
II.3	Polímeros biodegradables.....	18
II.3.1	Propiedades de los polímeros biodegradables	18
II.3.2	Acido poli láctico (PLA)	21
II.3.3	Almidón termoplástico.....	22
II.4	Polímero compuesto	22
II.5	Biodegradabilidad	23
II.5.1	Biodegradabilidad de polímeros.....	24
II.5.2	Biodegradación de bioplásticos bajo diferentes condiciones	25
II.6	Compostabilidad	26
II.6.1	Fases de la compostabilidad	26
II.6.2	Fase mesofílica	26
II.6.3	Fase termofílica.....	27
II.6.4	Fase mesofílica (Parte II)	27
II.6.5	Fase de maduración	28
II.6.5.1	Respiración	29
II.7	Fibras naturales	29
II.8	Componentes de la fibra	30
II.8.1	Celulosa	30
II.8.2	Lignina	32
II.8.3	Hemicelulosa	33
II.9	Revalorización de desechos agroindustriales	33
II.10	<i>Agave tequilana</i> Weber var. azul	34
II.11	Materiales compuestos con fibras naturales	35
II.11.1	Unión interfacial fibra natural / polímero	35
II.11.2	Pretratamientos para las fibras lignocelulósicas	36

II.11.3	Pretratamiento ácido.....	36
II.11.4	Pretratamiento enzimático	37
II.12	Marco legal bioplásticos.....	38
II.12.1	NAE-SEMADET-010/2019.....	38
III.	Planteamiento del problema	40
IV.	Justificación	42
V.	Hipótesis.....	44
VI.	Objetivos.....	45
VI.1.	Objetivo general.....	45
VI.2.	Específicos/particulares	45
VII.	Metodología y materiales	46
VII.1	Diseño experimental pretratamientos	46
VII.2	Origen de bagazo <i>Agave tequilana</i> Weber var. azul.....	48
VII.3	Pretratamientos químicos y enzimáticos de bagazo de <i>Agave tequilana</i> Weber var. azul	48
VII.3.1	Pretratamiento ácido	48
VII.3.2	Pretratamiento enzimático	49
VII.3.3	Pretratamiento ácido-enzimático en secuencia	50
VII.4	Caracterización química de bagazo <i>Agave tequilana</i> Weber var. azul	52
VII.5	Análisis estadístico pretratamientos	53
VII.6	Análisis composicional.....	54
VII.6.1	Análisis con espectrofotómetro.....	54
VII.6.2	Análisis con microscopio electrónico de barrido	54
VII.6.3	Análisis termogravimétrico	54
VII.7	Análisis de carbono orgánico total	55
VII.8	Determinación de biodegradabilidad en suelo.....	55
VII.9	Determinación de biodegradabilidad en agua.....	57
VIII.	Resultados y Discusión	61
VIII.1	Composición del Bagazo de Agave Crudo	61
VIII.2	Experimento 1: Pretratamiento ácido.....	62
VIII.3	Experimento 2: Pretratamiento Enzimático.....	66
VIII.4	Experimento 3: Pretratamiento ácido-enzimático	68
VIII.5	Análisis de fibras por espectrofotómetro FTIR.....	73

VIII.6 Imágenes de microscopio electrónico de barrido de las muestras de bagazo de agave	75
VIII.7 Resultados análisis termogravimétrico (TGA) de las muestras de bagazo de agave	77
VIII.8 Carbono orgánico total de las muestras de bagazo de agave y biopolímeros	80
VIII.9 Biodegradabilidad en suelo de las muestras de bagazo de agave y biopolímeros	81
VIII.10 Biodegradabilidad en agua de biopolímeros.....	86
IX. Conclusión.....	89
X. Perspectivas	90
XI. Bibliografía.....	91

Índice de Figuras

Figura 1. Tipos de materias primas requeridas para síntesis de biopolímeros. Adaptado de (Kabir et al., 2020).....	19
Figura 2. Conversión de ácido láctico a ácido poli láctico. (McKeen, 2012).	21
Figura 3. Esquema general de polímeros compuestos.	23
Figura 4. Estructura molecular de la celulosa ($n=DP$, grado de polimerización) (Klemm et al., 2005).	32
Figura 5. Etapas del proceso experimental.	47
Figura 6. Pretratamientos ácidos con diferentes tiempos en la autoclave y concentraciones de ácido sulfúrico. El asterisco denota diferencia significativa entre el control y cada pretratamiento. Las letras mayúsculas denotan diferencia significativa en el tiempo. Los gráficos son en términos de porcentaje relativo, solo considerando celulosa, hemicelulosa y lignina.	64
Figura 7. Pretratamiento enzimático con diferentes concentraciones. El asterisco denota diferencia significativa entre el control y el pretratamiento. Las letras minúsculas indican diferencia significativa entre los pretratamientos.	68
Figura 8. Pretratamiento ácido-enzimático con diferentes concentraciones. El asterisco denota diferencia significativa entre el control y el pretratamiento. Las letras mayúsculas indican diferencia significativa entre los pretratamientos.....	69
Figura 9. Comparación de los mejores resultados entre pretratamientos.	71
Figura 10. Análisis FTIR de bagazo de agave crudo y pretratado.....	74
Figura 11. a)Micrografía SEM de bagazo sin tratar (C). b) Micrografía SEM de bagazo con pretratamiento ácido (A10-1.5). c) Micrografía SEM de bagazo con pretratamiento enzimático (E24-1.5). d)Micrografía SEM de bagazo de agave con pretratamiento ácido-enzimático (E6-1.5).....	77
Figura 15. Análisis termogravimétrico del bagazo de agave crudo y pretratado.	78
Figura 16. Superposición de los termogramas TGA del bagazo de agave crudo y pretratado.....	79
Figura 17. Miligramos de carbono emitidos en 4.5 meses por las muestras de bagazo de agave. ((Cel) celulosa, (BC) Bagazo crudo, (BA) Bagazo ácido, (BE) Bagazo enzimático, (BAE) Bagazo ácido-enzimático.....	81

Figura 18. Miligramos de carbono emitidos en 4.5 meses por las muestras de polímeros. ((Cel) Celulosa, (P1) Polietileno, (P2) Polímero de ácido poli láctico, (DOE6) Mezcla 70% TPS y PLA, 30% BC, (DOE7) Mezcla 82% TPS y PLA, BC 18%, (TPS) Almidón termoplástico, (TPS Agave) Almidón termoplástico y bagazo de agave, (PLA) Ácido poli láctico.....83

Índice de Ilustraciones

Ilustración 1. Diagrama de pretratamiento ácido.	49
Ilustración 2. Diagrama pretratamiento enzimático.....	50
Ilustración 3. Diagrama pretratamiento secuencial ácido - enzimático.	52
Ilustración 4. Frascos con composta y muestras de bioplástico.....	57
Ilustración 5. Pruebas de biodegradabilidad aerobia.....	60
Ilustración 6. Bagazo de agave crudo parcialmente molido.....	62
Ilustración 7. Hidrólisis ácida.	63
Ilustración 8. Bagazo con pretratamiento ácido.....	63
Ilustración 9. Hidrólisis enzimática.....	66
Ilustración 10. Pellets de PLA después de estar por 4.5 meses en composta.	85

Índice de Tablas

Tabla 1. Uso de bioplásticos	20
Tabla 2. Clasificación de pruebas de composta.....	28
Tabla 3. Código, tiempo (min) y concentración (%) en los pretratamientos ácidos....	49
Tabla 4. Código, tiempo (h), y porcentaje de concentración de enzimas (Cellic® HTec2) en los pretratamientos enzimáticos.	50
Tabla 5. Código, porcentaje de concentración de ácido, tiempo (h) de reacción, porcentaje de concentración de enzimas (Cellic® HTec2) en los pretratamientos secuenciales ácido-enzimáticos.....	51
Tabla 6. Preparación de soluciones para biodegradabilidad aeróbica en líquido.	58
Tabla 7. Muestras de bioplásticos.....	58
Tabla 8. Fracciones de celulosa, hemicelulosa y lignina del bagazo de agave crudo (Muestra control).	61
Tabla 9. Porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina de la fibra pretratada con ácido.....	62
Tabla 10. Porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina de la fibra pretratada con enzimas.....	66
Tabla 11. Porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina de la fibra con un pretratamiento secuencial ácido-enzimático.....	69
Tabla 12. Efecto de la concentración de ácido, tiempo de reacción, concentración de enzimas y pretratamientos secuenciales en las fracciones de celulosa, hemicelulosa y lignina. Se determinó mediante análisis de varianza unidireccional con GraphPad Prism software® versión 8, seguido de una prueba ad hoc de Tuckey con un intervalo de confianza del 95%.	72
Tabla 13. Porcentaje de carbono orgánico total en las muestras de bagazo de agave y bioplásticos.....	80
Tabla 14. Porcentaje de biodegradabilidad por muestra.....	86
Tabla 15. Porcentaje de biodegradabilidad en agua.....	87

Acrónimos

CRT	Consejo Regulador del Tequila
DQO	Demanda química de oxígeno
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
NREL	National renewable energy laboratory
PLA	Ácido poli láctico
SEM	Microscopio electrónico de barrido
TGA	Análisis termogravimétrico
TOC	Carbono orgánico total
TPS	Almidón termoplástico

I. Introducción

La contaminación por plástico es uno de los problemas más graves de nuestro tiempo, a partir de los años 50 su producción fue en aumento año con año. En el 2020 se registró la producción de 367 millones de toneladas de plástico en el mundo, de acuerdo al reporte publicado por la compañía Statista (Tiseo, 2022). La increíble versatilidad de los plásticos explica el continuo crecimiento de la producción año tras año. Junto con ese crecimiento, el valor de mercado de los plásticos también continúa creciendo. El tamaño del mercado mundial de plástico aumentó de aproximadamente 502,000 millones de dólares estadounidenses del año 2016 a 579,700 millones de dólares estadounidenses en el año 2020, un aumento del 13% de su valor. Se pronostica que el mercado mundial de plástico aumentará su valor del año 2020 en un 30% para el 2028 (Tiseo, 2022).

La durabilidad del plástico, y los altos volúmenes en que son enviados a rellenos sanitarios han generado preocupación ya que esos desechos son contaminantes y se estima que pudieran tardar en degradarse hasta 400 años (Parker, 2021). Los plásticos son considerados un material no biodegradable, lo que quiere decir que no pueden ser descompuestos por acción microbiana (Philp *et al.*, 2013).

Una de las soluciones que se ha propuesto para evitar este problema es el reciclaje, se han desarrollado procesos para el reciclaje de diferentes tipos de plásticos. En algunos casos esta opción es inviable, como, por ejemplo, el caso de las bolsas de plástico desechables. Estas tienen una masa muy pequeña y por lo general están contaminadas con algún alimento o residuo de lo que transportaba, lo cual genera que su reciclaje no sea posible debido al alto costo económico que generaría (Ojeda *et al.*, 2009). Solo el 9% del total del plástico producido mundialmente es reciclado, por lo que la contaminación por desechos plásticos debe ser atacada con diferentes estrategias para lograr una solución integral (Geyer, Jambeck and Law, 2017).

Se deben pensar soluciones económicamente viables y no contaminantes para la elaboración productos que se utilizan como desechables. Es por esta razón que, en

México en el estado de Jalisco se expide la Norma Ambiental Estatal NAE-SEMADET-010 en el año 2019. En la cual se establecen especificaciones técnicas ambientales para la producción de bolsas plásticas para acarreo de un solo uso que sean distribuidas y/ o comercializadas en el estado de Jalisco. Esto con el fin de disminuir la utilización de plástico y la cantidad de bolsas plásticas y popotes no biodegradables desechados. Esta norma contiene especificaciones de producción, se indica que el material de las bolsas plásticas deberá contener en su composición un mínimo de material reciclado posconsumo o ser biodegradables al someterse a un proceso de compostaje. En el caso de las bolsas de acarreo biodegradables, no existen restricciones en la norma respecto al tipo de polímero que puede ser utilizado siempre y cuando cumpla con el estándar para el etiquetado de plásticos diseñados para ser compostados aeróbicamente en instalaciones municipales o industriales. La Norma Ambiental Estatal NAE-SEMADET-010 genera una oportunidad en Jalisco para desarrollar un polímero biodegradable que pueda sustituir el plástico proveniente del petróleo en las bolsas desechables.

De acuerdo a diferentes estudios realizados en los últimos años, una de las opciones viables económicamente y con propiedades similares a los plásticos sintéticos, es utilizar materiales compuestos por un polímero biodegradable y una fibra natural (Joseph *et al.*, 2002; Mohanty, Drzal and Misra, 2002). Los materiales compuestos pueden estar conformados por fibras sintéticas o de origen natural y estar mezcladas con un polímero, este igualmente puede ser a base de petróleo o de fuentes renovables. Para que un material compuesto sea biodegradable todos sus componentes debe provenir de materiales que puedan degradarse completamente al ser desechados, es decir que se puede utilizar una fibra natural y un polímero biodegradable para lograr un producto final que sea biodegradable. Esto significará que el producto es adecuado para su disposición en rellenos sanitarios ya que pueden ser degradados por la acción de microorganismos y el medio ambiente (Shanks, Hodzic and Wong, 2004; Mohammed *et al.*, 2015).

Los polímeros compuestos generan una oportunidad de aprovechamiento para las fibras vegetales, ya que muchas de las que se utilizan son desechos de algún cultivo o proceso productivo que tiene que ver con la industria agrícola. La Organización de

las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) estima que anualmente se generan más de 1300 millones de toneladas de desperdicio por la Agro-industria. La utilización de estos desperdicios significaría el aumento de la rentabilidad de la agro-industria, además de ayudar a estas empresas a crear un mercado más sostenible (Souza *et al.*, 2022).

Las fibras lignocelulósicas utilizadas son recursos renovables que además tienen ventajas sobre las fibras sintéticas, ya que su costo es bajo, son biodegradables y con carbono neutro en su generación de CO₂, tienen baja densidad, y sus propiedades son adecuadas para la necesidad mecánica que tienen los polímeros (Ku *et al.*, 2011; Karthi *et al.*, 2019). Estas pueden ser categorizadas por la zona de la planta de la que fueron extraídas, por ejemplo, de la semilla, de las hojas, del tallo o del líber (Ganster and Fink, 2006). Otro punto importante a considerar es la zona geográfica de la que se piensa extraer la fibra, para mantener el costo bajo de estas se deben aprovechar los cultivos cercanos y que tengan las características lignocelulósicas adecuadas. Algunas de las fibras provenientes de cultivos vegetales más utilizadas para la producción de bioplásticos son la fibra de coco, el sisal, la piña, el henequén, el yute, la linaza, el bagazo de caña y el bambú (Radoor *et al.*, 2020), esto debido a su alto contenido de celulosa (Mohammed *et al.*, 2015).

En Jalisco una de las plantas disponibles en cultivos cercanos y con estructura química similar a las variedades antes mencionadas es el *Agave tequilana* Weber var. azul, utilizado para la producción de tequila, una bebida alcohólica de gran demanda. Este tipo de agave es cosechado al momento de su madurez (seis u ocho años), posteriormente es cocido y exprimido para obtener los jugos con los cuales será producido el tequila. La fibra que se obtiene como desecho después del proceso de exprimido es conocido como bagazo. El bagazo representa el 40% del peso total de la piña del agave y es desechado en campo abierto en grandes cantidades, por lo que se ha convertido en un desecho contaminante a pesar de ser un material orgánico (Núñez, Rodríguez and Khanna, 2011; Kestur G. *et al.*, 2013). De acuerdo con lo publicado por el consejo regulador del tequila en Jalisco, la producción de tequila aumentó un 41.2% en el periodo de enero – noviembre 2021 a comparación con el año pasado anterior (2020), por lo que también hubo un aumento del 43.5% respecto al

año anterior de consumo de agave (Consejo-Regulador-del-Tequila, 2022). Desde hace algunos años se ha buscado aprovechar este desperdicio, en estudios previos se le han realizado caracterizaciones. Es por eso que sabemos que el bagazo de agave tiene un alto porcentaje de celulosa (Kestur G. *et al.*, 2013), lo que la convierte en una fibra con potencial para el reforzamiento de biopolímeros.

Las fibras naturales lignocelulósicas contienen tres componentes poliméricos principales hemicelulosa, celulosa y lignina (Li *et al.*, 2014). El elemento que se encuentra en mayor cantidad es la celulosa, la unidad elemental de una macromolécula de celulosa es la anhidro D-glucosa, que contiene tres grupos hidroxilo (-OH). Estos grupos hidroxilo forman enlaces de hidrógeno dentro de la propia macromolécula (intramolecular) y entre otras macromoléculas de celulosa (intermolecular) (George, Sreekala and Thomas, 2001). Por lo tanto, todas las fibras vegetales son de naturaleza hidrofílica. Esta característica de las fibras vegetales genera uno de los problemas más frecuentes de los biopolímeros, su afinidad por el agua causa problemas como poca adhesión con las matrices poliméricas, por lo que se han desarrollado procesos llamados pretratamientos para disminuir su capacidad hidrofílica. Además, se ha reportado en diversos estudios que aplicar pretratamientos a las fibras vegetales mejora sus propiedades de humectabilidad, modifica la microestructura, la topología de la superficie y los grupos químicos de la superficie, así como la fuerza de tensión (Merkel *et al.*, 2014; Rizal *et al.*, 2020). Existen diferentes pretratamientos, estos pueden ser químicos, enzimáticos, físicos o la mezcla de varios. Además, se pueden agregar factores como temperatura, tiempo y concentración que logran diferentes resultados. La utilización de cada pretratamiento depende de las características que se requieran y el tipo de fibra con la que se está trabajando, ya que cada tipo de fibra contiene diferentes porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina en su estado natural.

Esta investigación será un trabajo de colaboración entre el Centro de Tecnología Avanzada CIATEQ y el Centro de Público de Investigación CIATEJ. Será en CIATEJ donde se realizará el desarrollo de los pretratamientos para la fibra de acuerdo a las necesidades estipuladas por CIATEQ, quienes serán los que harán la formulación del

biopolímero. Posteriormente CIATEJ hará los análisis de biodegradabilidad del material compuesto de acuerdo a el método estándar ASTM D5338.

Para la modificación de las propiedades de las fibras, se aplicarán tres tipos de pretratamientos en diferentes concentraciones a la fibra (químico con hidróxido de sodio, ácido sulfúrico y enzimático) a diferentes concentraciones y por diferentes lapsos de tiempo. El propósito es definir que pretratamiento genera las mejores características químicas en el bagazo de agave para su adhesión con una matriz biopolimérica derivada de ácido poli láctico o almidón termoplástico (PLA o TPS). Las características evaluadas serán la composición química y propiedades morfológicas de la fibra, así como su capacidad de adhesión con la matriz biopolimérica y la biodegradabilidad del biocompuesto.

II. Marco teórico

II.1 Polímero

Los polímeros son sustancias químicas de naturaleza orgánica que se componen de cadenas largas e intrincadas de átomos. Las bases de estas cadenas de átomos son enlaces de hidrógeno, carbono, nitrógeno y oxígeno. Los materiales como el caucho, las proteínas, las resinas y los azúcares provienen naturalmente de la polimerización o encadenamiento de moléculas sencillas a las que se les conoce como monómeros (Encyclopaedia Britannica Publishers I.Vol 12, 1995).

Los monómeros pueden combinarse de múltiples formas para dar forma a diferentes polímeros. Los polímeros más sencillos son conocidos como homopolímeros, los cuales están formados por el mismo tipo de monómeros y contienen pocas impurezas. En cambio, se les conoce como copolímeros a las combinaciones de monómeros que son diferentes entre ellos por su estructura o composición; La cantidad presente en el copolímero de cada tipo de monómero es lo que determinará sus propiedades químicas y físicas (Gad and Services, 2014).

Los polímeros poseen alta resistencia a la tensión y golpes, son elásticos y se dilatan con la temperatura y en general son inatacables por agentes de la atmósfera. Estas características son posibles gracias a la longitud y flexibilidad de las cadenas moleculares que los conforman. Otras de sus características son la baja densidad, se pueden teñir con facilidad y son fácilmente moldeables ya que no poseen un punto de fusión determinado, sino un rango de temperatura en el cual el polímero se convierte en un material viscoso y blando (Encyclopaedia Britannica Publishers I.Vol 12, 1995). En resumen, los polímeros son un material altamente útil para la vida diaria, y con el descubrimiento de la producción a gran escala gana una cualidad más, se convierte en un material sumamente económico. Los polímeros se dividen en clases según su composición química.

II.2 Clases de polímeros

II.2.1 Polímeros inorgánicos

Los polímeros inorgánicos son macromoléculas en las que la principal cadena molecular está compuesta por átomos distintos al carbono. Algunos ejemplos de polímeros inorgánicos incluyen polisilanos (enlaces Si-Si), polisiloxanos (enlaces Si-O o siliconas), polisilazanos (enlaces Si-N), polisulfuros (enlaces S-S), polifosfacenos (enlaces P-N), poliborazilenos (enlaces B-N), y politiazilos (enlaces S-N) (Gad and Services, 2014).

II.2.2 Polímeros orgánicos

Los polímeros orgánicos son macromoléculas en las cuales su cadena principal está compuesta al menos parcialmente por átomos de carbono junto con átomos de nitrógeno, oxígeno entre otros. Los polímeros orgánicos además se pueden clasificar en naturales y sintéticos. Se consideran naturales los que provienen directamente de la naturaleza sin acción antropomórfica (Ej. Almidón, celulosa, pectina, quitina) y los sintéticos se consideran los que provienen directamente de la acción antropomórfica (Ej. Acrílico, polipropileno, polietileno) (Gad and Services, 2014).

El término plástico se aplica a polímeros de distintas estructuras y naturalezas que carecen de un punto fijo de ebullición, que por lo general se convierten en un material flexible y elástico a ciertos rangos de temperatura, lo cual permite que se les moldee en diferentes formas y pueda ser utilizado en para diferentes aplicaciones. Empero el termino plástico es utilizado de forma estricta para materiales que fueron logrados por un proceso de polimerización artificial de los átomos de carbono en las largas cadenas moleculares de los compuestos derivados del petróleo (Encyclopaedia Britannica Publishers I. Vol 11, 1995). Por lo tanto, se considera un polímero sintético. Los polímeros orgánicos que provienen de recursos renovables pueden ser biodegradables, es decir que pueden ser degradados por agentes del medio ambiente (Hassan, Bai and Dou, 2019).

II.3 Polímeros biodegradables

II.3.1 Propiedades de los polímeros biodegradables

La propiedad de biodegradabilidad de un polímero no depende del material del que proviene, sino de su estructura química. Los biopolímeros están conformados por bloques de químicos repetitivos llamados monómeros que provienen de recursos renovables y pueden degradarse por agentes del medio ambiente. Estos monómeros consisten de carbono (C), oxígeno (O), hidrógeno (H) y nitrógeno (N) (Mohiuddin, Kumar and Haque, 2017). La celulosa, el almidón, la quitina, las proteínas, los péptidos, el ADN y el ARN son ejemplos de biopolímeros, estos están conformados por monómeros como azúcares, aminoácidos y nucleótidos (Hassan, Bai and Dou, 2019). Las propiedades físico químicas de los polímeros (Dureza, conductividad de electricidad y calor, resiliencia, resistencia a la corrosión, color y transparencia) dependen del tipo de monómeros con los que están conformados, así como del orden o patrón de sus enlaces y de su grado de polimerización (Kabir *et al.*, 2020).

Los biopolímeros pueden ser clasificados en cinco categorías dependiendo el material del que se originan y su método de producción. Los provenientes de plantas (almidón, celulosa, zeína y pectina); los procedentes de animales y productos lácteos (caseína, proteína de suero, gelatina, quitosano y lípidos); los resultantes de productos fermentados (Polihidroxi butirato (PHB) y polihidroxi alcanoatos (PHA)); los que provienen de la síntesis química de sustancias naturales (ácido poli láctico (PLA)); y finalmente los biopolímeros obtenidos de la síntesis de recursos fósiles (poli-caprolactonas (PCL) y poliesteramidas (PEA)) (Vieira *et al.*, 2011).

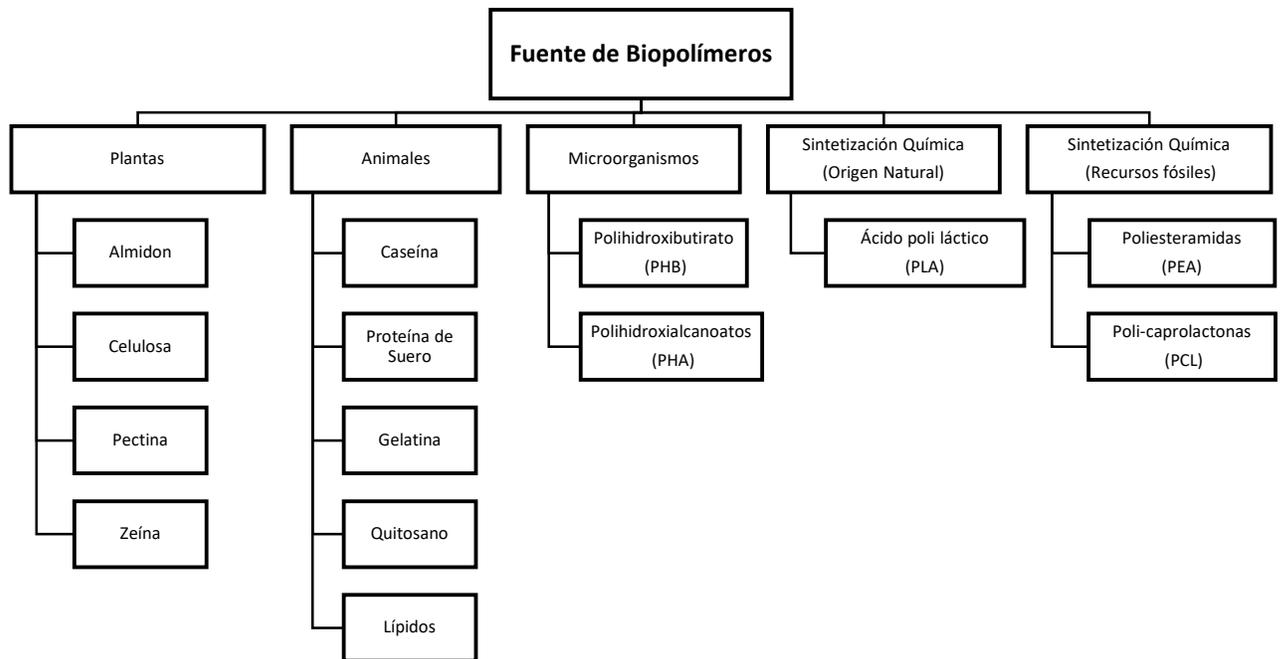


Figura 1. Tipos de materias primas requeridas para síntesis de biopolímeros. Adaptado de (Kabir *et al.*, 2020).

Los biopolímeros a base de almidón son altamente utilizados debido su abundancia y la facilidad con la que se procesa, estos pueden provenir del trigo, la tapioca, la papa y el maíz. El almidón actúa como un polímero de forma natural. Los biopolímeros a base de celulosa se componen de glucosa y es el polímero más obtenido de recursos naturales (Hassan, Bai and Dou, 2019), este se puede extraer casi de cualquier planta, pero las más utilizadas para su obtención son el algodón, el yute, sisal, cascara de coco, maíz, agave y cáñamo. Los biopolímeros de ácido láctico están formados a base de lactosa, la cual puede ser extraídos del maíz, la papa, el trigo y la remolacha.

El desarrollo de procesos de producción eficientes para materiales como los biopolímeros se origina debido a la preocupación por el aumento en la contaminación al medio ambiente, generados por la mala disposición de productos plásticos, en particular de los plásticos de un solo uso. Debido a que el reciclaje no es económicamente viable para todos los productos hechos de polímeros a base de petróleo, se buscaron otras alternativas. Un biopolímero cien por ciento degradable puede ser utilizado como producto desechable, ya que al degradarse genera

prácticamente los mismos productos finales que un desecho orgánico al final de su vida, y por lo tanto no será igual de contaminante que un plástico sintético. Si estos polímeros son etiquetados como compostables en estándares internacionales, entonces pueden ser compostados en plantas industriales de composteo.

Aunque la producción de biopolímeros es significativamente más pequeña que la de los plásticos convencionales, lentamente van entrando al mercado y reemplazando algunos tipos de plásticos provenientes del petróleo. En la siguiente tabla se indican algunas de las aplicaciones para las que se están utilizando (Folino *et al.*, 2020). Se puede observar en la Tabla 1 que los bioplásticos más utilizados en el mercado son los que son a base de almidón y a base de ácido poli láctico (PLA).

Tabla 1. Uso de bioplásticos

Fuente del Bioplástico	Uso
A base de celulosa	Empaques
	Esponjas
	Aplicaciones electrónicas
A base de almidón	Película
	Materiales rígidos (Platos y cubiertos)
	Empaques
	Productos médicos
	Agricultura
A base de PLA	Bolsas de un solo uso
	Empaques
	Productos desechables
	Aplicaciones electrónicas
	Fibras
	Productos médicos
	Productos para construcción
Agricultura	
A base de PHA	Textiles y película
	Productos médicos
	Agricultura
A base de petróleo	Empaques
	Productos médicos
	Agricultura

Adaptación de (Folino *et al.*, 2020).

II.3.2 Acido poli láctico (PLA)

El PLA es un polímero termoplástico de alta resistencia y alto módulo. Se produce a partir de recursos renovables como la caña de azúcar o almidón de maíz. Este polímero se considera compostable y biodegradable. Para producir el PLA se utiliza fermentación bacteriana para producir ácido láctico, el cual es convertido en el dímero de lactida para eliminar la molécula de agua que evita la producción de polímeros de alto peso molecular. Este dímero se polimeriza para formar PLA sin la producción de agua (McKeen, 2012).

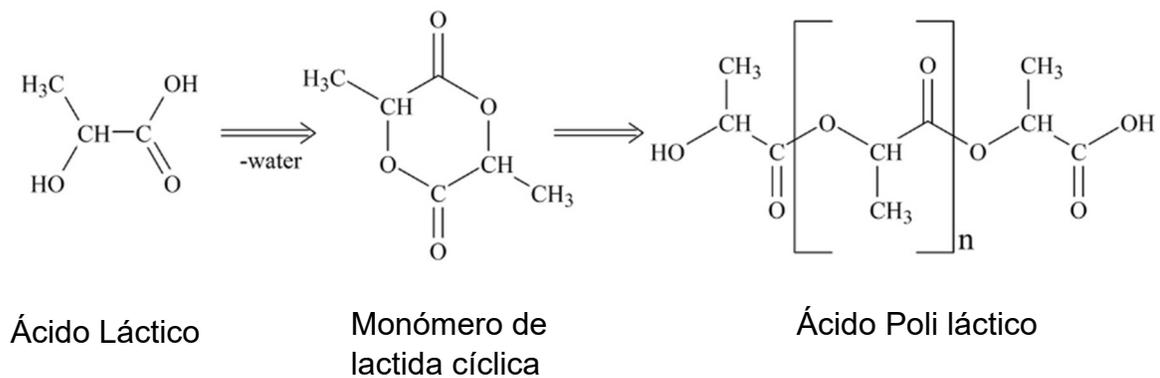


Figura 2. Conversión de ácido láctico a ácido poli láctico. (McKeen, 2012).

Entre sus desventajas podemos encontrar su poca dureza, es un material hidrofóbico y tiene una tasa de biodegradación lenta, la cual dependerá de la cristalinidad del material y de su peso molecular y podría generar problemas al momento de su desecho (Casalini *et al.*, 2019).

Las principales ventajas del PLA son que puede ser producido a partir de un recurso renovable, que es biodegradable, reciclable y es compostable. La producción de este polímero requiere 25%-55% menos energía que la producción de un polímero a base de petróleo y tiene mejor procesabilidad termal que otros biopolímeros. Esta estabilidad termal puede ser aumentada reforzando el polímero con fibras (Oksman, Skrifvars and Selin, 2003; Casalini *et al.*, 2019).

II.3.3 Almidón termoplástico

El almidón está compuesto por hidrógeno, carbono y oxígeno ($C_6H_{10}O_5$) y por lo tanto pertenece a la clase de carbohidratos compuestos orgánicos. También se le considera como un polímero de glucosa debido a que las unidades de glucosa están conectadas por un átomo de oxígeno, que conecta el átomo de carbono 1 de una unidad de glucosa al átomo de carbono 4 de la siguiente unidad de glucosa. A este tipo de enlace se llama enlace glucosídico (Nafchi *et al.*, 2013).

Las ventajas más importantes del almidón como material incluyen su bajo costo, su abundancia y la disponibilidad que hay de ella en los cultivos. Entre sus desventajas podemos encontrar que tiene alta solubilidad y puede perder sus propiedades en la presencia de humedad debido a sus grupos hidroxilo (De Carvalho, Curvelo and Agnelli, 2001). Además, ha sido reportado en diferentes estudios que el mezclar fibras con el TPS aumenta su resistencia a la tracción, disminuye su deformación y aumenta el módulo de Young (Pérez-Pacheco *et al.*, 2016).

II.4 Polímero compuesto

Los polímeros compuestos son un material conformado por una matriz polimérica la cual puede ser de origen natural o sintético que se mezcla con algún tipo de fibra, estas igualmente pueden ser sintéticas o naturales (Joseph *et al.*, 2002; Shanks, Hodzic and Wong, 2004). Las fibras le proporcionan estructura al material resultante.

Para desarrollar un polímero compuesto biodegradable se deben utilizar componentes que tengan la capacidad de descomponerse por contacto con elementos del medio ambiente al ser desechados.

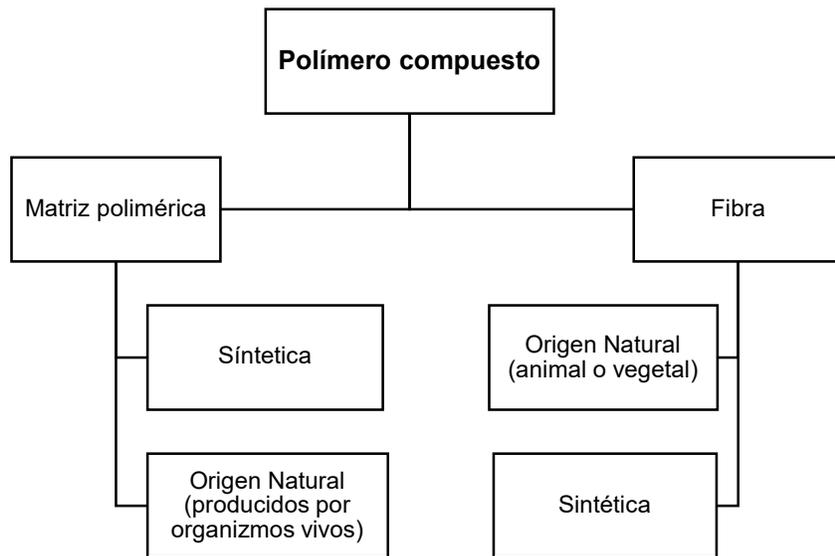


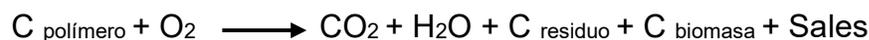
Figura 3. Esquema general de polímeros compuestos.

II.5 Biodegradabilidad

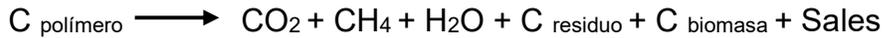
Se puede definir biodegradabilidad como la capacidad de un material para descomponerse después de interacciones con elementos biológicos. Por ejemplo, la acción de enzimas y / o descomposición química que está asociada a organismos vivos, como bacterias, hongos, etcétera (Zhong *et al.*, 2020). Existen otros procesos, como por ejemplo la foto-degradación, biodegradación mecánica, biodegradación térmica, oxidación e hidrólisis que son importantes a considerar, ya que también tienen un impacto de degradación en la estructura y las cadenas de los polímeros (Lucas *et al.*, 2008). Los productos finales (en una completa mineralización) de los polímeros biodegradados típicamente incluyen CO₂, CH₄, Agua, biomasa y otras sustancias naturales (Banik, Dey and Sastry, 2017).

El proceso químico puede ser resumido a las siguientes ecuaciones:

Condiciones aeróbicas:



Condiciones anaeróbicas:



*(C = carbón)

En una mineralización total (o biodegradación), no debe quedar ningún residuo del material original. El producto debe estar convertido totalmente en productos gaseosos y sales. Por lo que en un biopolímero se debe incluir el porcentaje de biodegradación que puede tener, además de los posibles subproductos que pueden liberarse y su impacto en el medio ambiente (Grima *et al.*, 2000).

II.5.1 Biodegradabilidad de polímeros

Muchos polímeros son altamente estables, por lo que difícilmente se biodegradan al tener contacto con agentes biológicos. Los polímeros biodegradables se consideran aquellos que, al ser desechados logran biodegradarse por la eliminación hidrolítica o enzimática de sus enlaces. Los biopolímeros pueden ser diseñados para descomponerse al ser enviados a tiraderos de basura, al ser compostados o al ser enviados a plantas de degradación anaeróbica (Goswami and O’Haire, 2016). De esta forma el desecho no permanecerá por largo tiempo en el medio ambiente.

El proceso de biodegradación tiene diferentes fases: deterioración, fragmentación y asimilación (incluyendo la participación abiótica). La deterioración es la modificación química o física que sufre la superficie de un material por acción mecánica, química o enzimática al ser desechado. Posterior a la deterioración ocurre la fragmentación, la cual es un proceso de lisis, en el cual se deben romper varios enlaces para obtener los monómeros. Esta tarea también es cumplida por acción mecánica, química o enzimática. Finalmente, la asimilación es el evento en el cual ocurre una integración de los átomos de los fragmentos del polímero dentro de las células microbianas. Esta integración le provee a las bacterias de energía y recursos para formación de su estructura celular. Estas asimilaciones también permiten a los microorganismos crecer

y reproducirse al tiempo que aprovechan como sustratos materiales poliméricos (Lucas *et al.*, 2008). El proceso de biodegradación de los biopolímeros puede ocurrir bajo diferentes ambientes, aerobio o anaerobio (Grima *et al.*, 2000).

II.5.2 Biodegradación de bioplásticos bajo diferentes condiciones

El proceso de biodegradación puede ocurrir en dos diferentes ambientes, aerobio (en presencia de oxígeno) o anaerobio (sin oxígeno disponible). Estos ambientes se subdividen en dos nuevamente; en ambiente sólido (en tierra) y ambiente acuático (en agua), por lo que se puede considerar que son cuatro ambientes posibles donde puede ocurrir un proceso de biodegradación (Grima *et al.*, 2000).

En un ambiente anaerobio, no debe haber presencia de oxígeno, y puede tener dos rutas: Fermentación anaeróbica, cuando la materia orgánica puede actuar como donador de electrones o receptor, y la respiración anaeróbica en la que se requiere un aceptor como CO_2 , SO_4^{2-} , NO_3^- (Quecholac-Piña *et al.*, 2020). Los elementos que deben existir para la biodegradación anaerobia de biopolímeros son:

- Medio ambiente apropiado con la temperatura, potencial redox, pH y concentración de hidrógeno adecuados.
- Concentración de microorganismos adecuados a las características del polímero que será el sustrato (Quecholac-Piña *et al.*, 2020).

En un ambiente aerobio deben existir los siguientes elementos para la biodegradación de un biopolímero:

- Organismos con las capacidades metabólicas apropiadas para sintetizar enzimas específicas para el polímero a biodegradar.
- Medio ambiente con humedad, temperatura, oxígeno y sales a niveles adecuados.
- El sustrato, en este caso el polímero debe tener características como enlaces químicos, grado de hidrofobicidad, grado de polimerización, peso molecular y

cristalinidad adecuados para su biodegradación (Grima *et al.*, 2000; Folino *et al.*, 2020).

El compostaje es un método aerobio que puede lograr la descomposición de residuos cuando existen las condiciones adecuadas (Meena *et al.*, 2021).

II.6 Compostabilidad

II.6.1 Fases de la compostabilidad

El compostaje es un proceso biológico que ocurre solamente en condiciones aeróbicas, es decir en presencia de oxígeno. Con las condiciones adecuadas de humedad de sustrato, temperatura, pH, aeración y tasa de carbono: nitrógeno ocurre una transformación de residuos orgánicos, esto con la ayuda de microorganismos, los cuales descomponen la materia orgánica en agua (H₂O), dióxido de carbono (CO₂) y calor. En este proceso también se genera un sustrato sólido con menor carbono y nitrógeno, pero más estable. A este sustrato se le llama composta (Meena *et al.*, 2021). Podemos observar en la siguiente ecuación las entradas y salidas del proceso de compostaje:

Materia orgánica + O₂(oxígeno) + microorganismos → CO₂+ H₂O + composta + calor

El proceso de compostaje conlleva cuatro fases, las cuales son diferenciadas por sus cambios en la temperatura: Fase mesofílica, fase termofílica, fase mesofílica (parte 2), y fase de maduración (Meena *et al.*, 2021).

II.6.2 Fase mesofílica

La primera fase, llamada mesofílica se caracteriza por llegar a la temperatura de 42 °C, la cual puede durar desde algunas horas a un par de días. Este aumento de temperatura ocurre debido a la actividad metabólica de grupos heterogéneos de organismos, ya que asimilan en su organismo nitrógeno y carbono de la materia orgánica. El pH de la composta puede bajar hasta 4.5 – 5.5 debido a la producción de

ácidos orgánicos por la descomposición de compuestos solubles como azúcares (Mortier, Velghe and Verstichel, 2016; Meena *et al.*, 2021).

II.6.3 Fase termofílica

Cuando la temperatura de la composta llega a una temperatura mayor a 45 °C, los microorganismos mesofílicos son remplazados por organismos termofílicos, los cuales pueden crecer a mayores temperaturas. Este tipo de microorganismos permiten la degradación de compuestos complejos como la celulosa y la lignina (Datta *et al.*, 2017; Meena *et al.*, 2021). En este punto, hay una conversión de nitrógeno a amonio, lo cual resulta en un aumento del pH hasta de 8-9. A esta fase se le conoce como la fase de higienización, ya que las altas temperaturas (por arriba de los 55 °C) de la composta matan contaminantes como bacterias de materia fecal (*Escherichia coli*, *Salmonella sp.*), esporas patógenas, etc. (Meena *et al.*, 2021).

II.6.4 Fase mesofílica (Parte II)

Al momento en el que las fuentes de nitrógeno y carbono se terminan en el sustrato, se puede observar que la temperatura comienza a bajar, y vuelve a encontrarse en un rango de 40-45 °C. En este punto, continua la biodegradación de polímeros como la celulosa. Conforme la temperatura sigue bajando, se reactivan los organismos mesofílicos, el pH de la composta se mantiene con un alcalino. Este proceso de enfriamiento puede durar incluso semanas (Sundberg, Smårs and Jönsson, 2004; Meena *et al.*, 2021).

II.6.5 Fase de maduración

En la fase de maduración la temperatura de la composta baja a un rango de 20-30 °C, en esta fase se condensan compuestos de carbono y ocurre la polimerización, lo cual permite la formulación del ácido fúlvico y el ácido húmico. Se puede definir como composta “madura” aquella que no causa efectos adversos cuando es utilizada en plantas. Una composta inmadura e inestable puede causar efectos adversos, ya que por el exceso de actividad microbiológica puede causar autocalentamiento (Wichuk and McCartney, 2010; Meena *et al.*, 2021).

Tabla 2. Clasificación de pruebas de composta.

Categoría de prueba	Tipos de prueba para maduración
Física y sensorial	Temperatura de la composta Color Olor
Biológica (Planta y microbiológica)	Respiración media como producción de CO ₂ /día (Incluyendo capacidad de autocalentamiento) Fitotoxicidad Actividad enzimática
Química	Relación de Carbón: Nitrógeno Materia orgánica Parámetros de humificación Capacidad de intercambio de cationes Capacidad de conducción eléctrica pH Amonio y nitrato Carbono orgánico disuelto

Adaptación de (Wichuk and McCartney, 2010).

II.6.5.1 Respiración

La prueba de respiración proporciona una forma de medición de la actividad biológica presente en la composta, la cual en condiciones óptimas demuestra el grado de descomposición que hay en la materia orgánica. En teoría mientras más alto sea el grado de descomposición de la materia orgánica, menor debería ser el grado de actividad microbiana y por lo tanto la tasa de respiración debería ser menor. La tasa de respiración se puede observar en la producción de dióxido de carbono o en el consumo de oxígeno ya que los organismos utilizan oxígeno y respiran dióxido de carbono durante una descomposición aerobia (Wichuk and McCartney, 2010).

Al momento de llegar a un punto de maduración, se debe observar una clara disminución del consumo de oxígeno, ya que teóricamente la actividad microbiana disminuye al disminuir la disponibilidad de materia orgánica. También se debe observar una clara disminución de la producción de dióxido de carbono al estabilizarse la composta también debido a la disminución de actividad microbiana en la composta (Wichuk and McCartney, 2010).

II.7 Fibras naturales

La definición simple de las fibras naturales es que son fibras no sintéticas o artificiales, y pueden provenir de plantas o animales. Las fibras naturales tienen el potencial para ser utilizadas como remplazo a fibras sintéticas con algunos beneficios agregados, como su bajo costo, baja densidad, propiedades de fuerza específica aceptables, recuperación de energía, son neutras en CO₂ y son biodegradables (Fitch-Vargas *et al.*, 2019; Karthi *et al.*, 2019). Sin mencionar que la energía requerida para la producción de fibras naturales es solamente el 17% de la requerida para la producción de fibra de vidrio (Zhong *et al.*, 2020). Estas características convierten a las fibras vegetales en una opción viable económicamente y con buenas características para proporcionar estructura a diferentes tipos de polímeros.

En muchos países existen cultivos de diferentes productos vegetales cuyos desechos pueden ser utilizados para producción de bioplásticos (Pickering, Efendy and Le,

2016). La ubicación geográfica del cultivo del que se obtendrá la fibra es un factor importante, ya que de esto depende el tipo de fibra disponible. El aprovechamiento de recursos cercanos a el lugar donde se planea la producción de polímeros compuestos tiene un beneficio agregado, ya que el costo y contaminación que generan los procesos de transporte y logística se reducen considerablemente. Además, este ahorro se traduce también en el costo final del material producido.

Algunas de las especies de plantas utilizadas para la obtención de fibra son el yute, el cáñamo, bagazo de caña, linaza, sisal, entre otras (Radoor *et al.*, 2020). Se utilizan estas plantas debido a las propiedades naturales de sus fibras, las cuales están influenciadas por la estructura química, es decir por su contenido de celulosa, grado de polimerización y orientación de la cristalinidad (George, Sreekala and Thomas, 2001). Según estudios previos, las propiedades de los materiales compuesto de fibra natural son diferentes entre sí, debido a los diferentes tipos de fibras, fuentes y condiciones de humedad.

Las fibras vegetales están constituidas principalmente por celulosa, lignina y hemicelulosa en diferentes porcentajes dependiendo de la especie de la planta. Aunque no son los únicos componentes son los más abundantes en las fibras vegetales.

II.8 Componentes de la fibra

II.8.1 Celulosa

La celulosa es considerada como uno de los polímeros orgánicos más comunes, representa alrededor de 1.5×10^{12} ton del total de la producción anual de biomasa en el mundo (Klemm *et al.*, 2005). Se tiene la creencia de que es un material de procedencia natural casi inagotable. La estructura específica de este polímero orgánico es lo que le da tanta importancia, ya que fusiona la química de carbohidratos y polímeros en una macromolécula. Esta macromolécula está compuesta por unidades de glucosa que son repetitivas, lo que genera que tenga funciones diversas, reactividad y especificidad

alta. Las interacciones intermoleculares, reacciones de reticulación, longitudes de cadena, la distribución de longitud de cadena y la distribución de grupos funcionales en las unidades repetitivas de glucosa y a lo largo de las cadenas de polímeros son lo que determina las propiedades y las reacciones de la celulosa (Klemm *et al.*, 2005). Es decir, que la morfología de la celulosa es la que determina sus características.

La estructura de las cadenas de glucosa es diferente al inicio y al final de la cadena, y están unidas por enlaces glucosídicos. Al inicio de la cadena comienza con una unidad de D-glucosa con un grupo C4-OH, este lado no está reducido; el final de la cadena está reducido y termina con un grupo C1-OH, que se encuentra en equilibrio con la estructura de aldehído. Las cadenas de glucosa se agrupan gracias a los enlaces de hidrógeno que se generan entre ellas, esto permite que se organicen en una estructura similar a la que tienen los cristales y puedan mantener una red plana (Merkel *et al.*, 2014).

Las propiedades hidrofílicas, de quiralidad, de biodegradabilidad y la alta variación química que se inicia por la reactividad donadora de los grupos OH, son gracias a la estructura molecular que tiene la glucosa. Las redes formadas por las cadenas de glucosa también proporcionan las características de cristalinidad de las fibras y da la celulosa diferentes estructuras. Es por esto que podemos decir que las propiedades de la celulosa son determinadas por el orden jerárquico que se define en la estructura y la organización supramolecular (Thakur and Thakur, 2014).

Las cadenas individuales de celulosa (Figura I) se combinan una con otra para formar una microfibrilla, con un diámetro aproximado de 3.5 nm, estas a su vez se acomodan en grupos de 20-50 nm de diámetro formando una estructura conocida como celulosa microfibrilar. Estos grupos de celulosa microfibrilar son los que componen la fibra celulosa. Las fibras de celulosa se encuentran asociadas sustancias como la lignina, pectina, hemicelulosa, grasas y proteínas (Merkel *et al.*, 2014) es por eso que se les da pretratamiento a las fibras, para lograr la separación de estas sustancias y obtener mayor cantidad de celulosa. En resumen, se puede decir que la función biológica y las numerosas aplicaciones de la celulosa son gracias a su morfología.

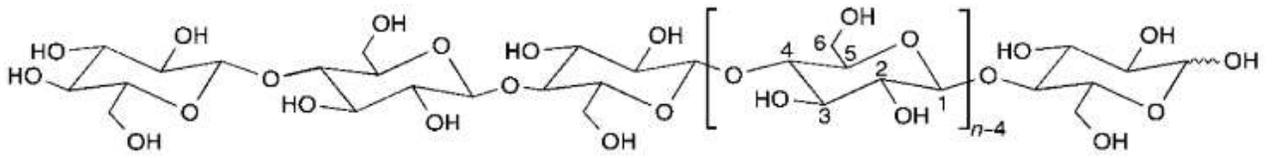


Figura 4. Estructura molecular de la celulosa ($n=DP$, grado de polimerización) (Klemm *et al.*, 2005).

II.8.2 Lignina

En las paredes celulares de las plantas, se encuentra un compuesto orgánico aromático llamado lignina (Datta *et al.*, 2017). La lignina se compone de un gran grupo de polímeros aromáticos, estos resultan de el acoplamiento combinatorio oxidativo de 4-hidroxi fenilpropanoides. Por lo general estos polímeros se encuentran en las paredes de las células, y tienen la función de hacerlas rígidas e impenetrables (Vanholme *et al.*, 2008). La lignina junto con la hemicelulosa, con la que está unida covalentemente proporcionan las capacidades a la pared celular para permitir que las plantas crezcan hacia arriba. También proporcionan al sistema vascular la hidrofobicidad necesaria para el transporte de agua y solutos (Vanholme *et al.*, 2008).

Las reacciones de acoplamiento radical son esencialmente el proceso por el cual ocurre la biosíntesis de la lignina. Algunas veces estas reacciones de acoplamiento radical son seguidas por la adición de agua o de grupos hidroxilo primarios, secundarios y fenólicos a intermediarios de quinonemetida. Esto conlleva a la formación de polímeros tridimensionales que carecen de las unidades de repetición regulares y ordenadas como se pueden encontrar en tipos de polímeros naturales como la celulosa y las proteínas. Es por eso que la lignina no es considerada como un compuesto definido, sino como un compuesto de materiales que son física y químicamente heterogéneos (Liu, Luo and Zheng, 2018).

Los principales elementos estructurales de la lignina son alcoholes de hidroxycinnamilo, alcohol coniferílico y alcohol sinapílico, con cantidades normalmente menores de alcohol p-cumarílico (Vanholme *et al.*, 2008). Debido a la estructura compleja de la

lignina y su naturaleza recalcitrante, su degradación es un gran desafío (Datta *et al.*, 2017), especialmente en ambientes anaerobios (Banik, Dey and Sastry, 2017).

II.8.3 Hemicelulosa

La hemicelulosa es uno de los componentes de las fibras vegetales, es un polímero que tiene una estructura aleatoria y amorfa con poca fuerza y conforma del 20% al 30% de las paredes celulares de las plantas. Sus cadenas de azúcares son más cortas que las de la celulosa, es el segundo carbohidrato más abundante después de la celulosa y es un polisacárido (Mosier *et al.*, 2005). Se distribuye principalmente en la pared celular primaria, pero es posible encontrar hemicelulosa en la pared secundaria. A nivel molecular se encuentra entre las moléculas de celulosa y en las regiones micelares cristalinas de la celulosa (Whistler, 2012).

La hemicelulosa está constituida por cadenas largas y altamente ramificadas. Por lo general consisten en una cadena larga en forma lineal que se considera como la principal y numerosas ramas cortas que consisten en una o varias unidades de azúcar que normalmente son de un tipo diferente a las que componen la cadena principal. Los monómeros de azúcar que la conforman son glucosa, manosa, arabinosa y xilosa. Se le clasifica a la hemicelulosa en dos tipos, la A (HCA) que es poco soluble en agua y la B (HCB) que si es soluble en agua (Yilmaz Celebioglu *et al.*, 2012).

II.9 Revalorización de desechos agroindustriales

Los desechos agroindustriales son se refieren a el desperdicio proveniente de los campos de cultivo y de la industria relacionada a la agricultura. Estos residuos pueden ser vegetales, frutas, piel de vegetales o frutas, bagazo, residuos de almidón etc. Son residuos que se desechan en grandes cantidades y pueden ser convertidos en productos de valor. Algunos ejemplos son la generación de energía, la producción de biocombustibles, la generación de biogás y la producción de materiales biodegradables. Dependiendo de las características de cada sustrato se pueden

producir diferentes tipos de productos (Yaashikaa, Senthil Kumar and Varjani, 2022). Un desecho agroindustrial de gran importancia en México es el bagazo de agave proveniente del *Agave tequilana* Weber var. azul, el cual se utiliza para la producción de tequila. El bagazo representa el 40% del volumen total del agave una vez que se utiliza para la producción de tequila (Núñez, Rodríguez and Khanna, 2011).

II.10 *Agave tequilana* Weber var. azul

El *Agave tequilana* Weber var. azul es una especie de agave endémica de México que es utilizada para la producción de tequila. Debido su estatus de Denominación de Origen del Tequila (DOT), el *Agave tequilana* Weber var. azul debe ser producido solo en el estado de Jalisco, y algunos municipios de Guanajuato, Nayarit, Michoacán y Tamaulipas (Consejo-Regulador-del-Tequila, 2019).

Gracias a la producción de tequila, se genera una oportunidad en México para el desarrollo de biopolímeros. Esto se debe a que uno de los principales desechos del proceso de producción es el bagazo de agave, una fibra con alto contenido de celulosa. Debido a la creciente demanda de tequila en el mundo, su producción ha ido en aumento y en consecuencia ha aumentado la cantidad de bagazo de agave que se desecha en campo abierto. A pesar de ser un desecho orgánico, las altas cantidades de bagazo en un mismo lugar genera un daño al medio ambiente. El bagazo representa el 40% del peso total de la piña del agave. De acuerdo con lo publicado por el consejo regulador del tequila en Jalisco, la producción de tequila aumentó un 41.2% en el periodo de enero – noviembre 2021 a comparación con el año anterior (2020) alcanzando los 487.3 millones de litros tequila. Se utilizaron 1 millón 866 mil toneladas de agave, también obteniendo un aumento del 43.5% respecto al año anterior. Siguiendo con esta tendencia de crecimiento se estima que para el cierre del 2022 se consuma por arriba de los 2 millones de toneladas de agave (Consejo-Regulador-del-Tequila, 2022). Generando por consecuencia alrededor de 800,000 toneladas de bagazo al año, el 40% del volumen de agave.

El agave se cosecha o en términos de tequila, se jima cuando la planta tiene entre 4 y 6 años. Este proceso conlleva remover las hojas de la planta y dejar al descubierto el centro de la planta, conocido coloquialmente como “piña”. Estas piñas pasan por un proceso de cocción, posteriormente son exprimidas para extraer los jugos, los cuales serán procesados para la producción del tequila. La parte fibrosa de la piña que queda al final del proceso de extracción de los jugos es conocida como el bagazo de agave. Gracias a estudios anteriores, se sabe que el bagazo tiene un alto contenido de celulosa. En 2010, Saucedo-Luna reportó un contenido de celulosa del 42%, el cual demuestra el potencial que tiene esta fibra para ser utilizada para reforzamiento de polímeros en materiales compuestos por fibras naturales.

II.11 Materiales compuestos con fibras naturales

II.11.1 Unión interfacial fibra natural / polímero

Las fibras naturales tienen una alta capacidad hidrofílica, esto se debe a la interacción que puede ocurrir entre los grupos hidroxilo en los componentes de las fibras y las moléculas de agua (Diani and Gall, 2006). Es un proceso de hidratación, el cual ocurre con la interacción que existe entre los grupos OH accesibles en la fibra y el agua. Este proceso, se originan en la región no cristalina y se extiende hasta la región cristalina de la fibra. La molécula de agua absorbida por la molécula de celulosa y se forma hidrato de celulosa. Esta reacción es exotérmica, lo que proporciona fuerza motriz para una mayor absorción. Esta característica hidrofílica de las fibras es la razón principal por la que la adhesión de las fibras naturales con la matriz polimérica se ve afectada de forma negativa, ya que las matrices poliméricas son hidrofóbicas (Hao *et al.*, 2018).

Es uno de los problemas más frecuentes de los biopolímeros reforzados con fibras naturales es la desunión de los componentes con el tiempo principalmente debido a la capacidad de absorción de humedad de las fibras (Gassan and Bledzki, 1999). Esto puede causar una disminución en eficacia en las propiedades mecánicas del material compuesto. De tal manera que es muy recomendable realizar un pretratamiento a las

fibras naturales para modificar algunas de sus propiedades y que les confieran mayor compatibilidad para formar matrices de materiales compuestos o biopolímeros.

II.11.2 Pretratamientos para las fibras lignocelulósicas

La palabra pretratamiento indica un tratamiento previo a otro proceso, estos pueden ser de diferente índole dependiendo de los objetivos que se quieran lograr. En este proyecto se realizarán pretratamientos químicos y/o enzimáticos a las fibras lignocelulósicas para que puedan ser mezcladas posteriormente con un polímero de forma exitosa. La conclusión de diferentes estudios ha sido que los pretratamientos de las fibras naturales resultan en una notable mejora en los bioplásticos compuestos con fibras naturales (Oudiani *et al.*, 2011; Pickering, Efendy and Le, 2016). Generalmente las modificaciones realizadas a la biomasa se centran en utilizar grupos funcionales reactivos, estos tienen la capacidad de cambiar la composición de la estructura de las fibras (Mohammed *et al.*, 2015).

Los componentes no celulósicos de las fibras (ceras, lignina y hemicelulosa) pueden ser eliminados por medio de tratamientos químicos o enzimáticos superficiales. De esta forma se logran aumentar los sitios de reacción y la fracción de volumen de la celulosa que está expuesta en la superficie. Esta modificación ayuda a mejorar la interacción química entre las fibras naturales y la matriz polimérica (Fitch-Vargas *et al.*, 2019; Dehouche *et al.*, 2020; Madhu *et al.*, 2020). Entre los pretratamientos que se pueden utilizar se describen a continuación ácido y enzimático por ser relevantes para este trabajo.

II.11.3 Pretratamiento ácido

Uno de los métodos que se utiliza comúnmente para mejorar las propiedades de la biomasa lignocelulósica es el pretratamiento ácido. Lo que se busca en este pretratamiento es la descomposición de la hemicelulosa y la disolución de la lignina. Hace uso de condiciones fisicoquímicas severas a base de una solución ácida a diferentes concentraciones, además las condiciones incluyen factores de temperatura, tiempo y proporción sólido/líquido de la biomasa y la solución. La estructura y la

interacción de los polímeros en la lignina se modifican durante el pretratamiento, lo que finalmente logra que se degraden las interacciones con lignina del complejo y se liberen los polisacáridos simples (Torres-Tello *et al.*, 2017). (La disminución de lignina en las fibras vegetales mejora su interacción con la matriz polimérica ya que disminuyen las propiedades hidrofílicas de la biomasa.

II.11.4 Pretratamiento enzimático

La aplicación de enzimas para modificar la superficie de la fibra natural, como el cáñamo, el lino, la lana y el algodón ha sido ampliamente investigada por la industria (Konczewicz and Kozłowski, 2012). La mayoría de las aplicaciones industriales están destinadas a mejorar las propiedades de la superficie de la fibra mediante la eliminación de componentes como lignina, grasas, ceras, proteínas y partes no cristalinas. También puede lograr la descomposición de hemicelulosa y/ o lignina dependiendo del coctel enzimático utilizado. Diferentes enzimas son utilizadas para los pretratamientos enzimáticos, entre las más comunes para pretratamiento de fibras naturales son las celulasas, hemicelulasas y pectinasas (Bledzki *et al.*, 2010). Para este método de pretratamiento se hace uso de condiciones de temperatura, tiempo de reacción y concentración de la solución enzimática, además de la selección del tipo de enzimas a utilizar y proporción sólido/líquido de biomasa y solución.

Los pretratamientos son una herramienta importante para cambiar la estructura de la biomasa lignocelulósica, logrando liberar la celulosa de la intrincada red en la que se encuentra con la hemicelulosa y la lignina (Amin *et al.*, 2017). Además de aumentar la fracción de celulosa debido a la hidrólisis de la hemicelulosa causada por los pretratamientos. Con una mayor cantidad de celulosa disponible además se logra aumentar la fuerza de la fibra respecto a la fibra sin tratar (Agbor *et al.*, 2011).

II.12 Marco legal bioplásticos

II.12.1 NAE-SEMADET-010/2019

En el estado de Jalisco, México en el año 2019 se establecen los criterios y especificaciones técnicas ambientales para la producción de bolsas de plástico y popotes de un solo uso distribuidas o comercializadas en Jalisco. Esto con el objetivo de establecer los criterios y especificaciones técnicas que se deben cumplir en la producción, distribución y venta de estos productos (Periódico Oficial del Estado de Jalisco, 2019).

Se define como bolsa de un solo uso o de acarreo aquella que fue elaborada con materiales plásticos y que se entregan en establecimientos a los consumidores en los puntos de venta. Y de acuerdo a la norma, a partir del 2020 toda bolsa de plástico para acarreo que se distribuya y/o comercialice, en el Estado de Jalisco debe cumplir con alguno de los siguientes requisitos:

1. Contener un porcentaje mínimo de 40% de material reciclado conforme a la norma.
2. Demostrar ser una bolsa producida con material biodegradable y compostable conforme a la norma.

La norma hace referencia a métodos estándar para comprobar durabilidad y biodegradabilidad de los materiales en las bolsas de plástico y popotes de un solo uso.

- ASTM-D638-03, Método de prueba para determinar la propiedad de tensión en plásticos.
- ASTM-D882-02, Método de prueba para determinar la tracción en películas plásticas.
- ASTM-D1238-04, Método para determinar el índice de fluidez de materiales termoplásticos utilizando un plastómetro.

- ASTM-D5338-15, Método de prueba estándar para determinar la biodegradación aeróbica de materiales plásticos en condiciones de compostaje controlado, incorporando temperaturas termofílicas.
- ASTM-D6400-19, Especificación estándar para el etiquetado de plásticos diseñados para ser compostados aeróbicamente en instalaciones municipales o industriales.
- ASTM-D6868-03, Especificaciones para plásticos biodegradables usados como recubrimientos en papel y otros sustratos compostables.
- ASTM-D6954-18, Guía estándar para la exposición y prueba de plásticos que se degradan en el medio ambiente mediante una combinación de oxidación y biodegradación.
- ASTM-D6988-03, Determinación del espesor en películas plásticas.

Esta norma está vigente en todo el estado de Jalisco desde el 31 de octubre del 2019, a partir de esta fecha se pueden aplicar sanciones por su incumplimiento conforme a las disposiciones de la Ley Estatal del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y la Ley de Gestión Integral de los Residuos del Estado de Jalisco y su Reglamento por conducto de la Procuraduría Estatal de Protección al Ambiente (Periódico Oficial del Estado de Jalisco, 2019).

III. Planteamiento del problema

Se ha buscado mejorar el manejo de residuos plásticos alrededor del mundo, lo que incluye su reúso, reciclaje y en algunos casos aprovechamiento para producción de energía. Aunque el porcentaje de reciclaje a nivel mundial es tan solo del 9% (Geyer, Jambeck and Law, 2017).

En México la industria del plástico aporta el 0.4% del PIB del País y un 2.6% del PIB manufacturero. En cuestión de empleos, representa 260,000 empleos directos y 500,000 empleos indirectos a nivel país (Aguirrezabal Unamunzaga, 2019). La búsqueda de una alternativa al plástico debe tener un enfoque de conservación de empleos y generación de innovación que sea adaptable al modelo de la industria del plástico. Debe ser una innovación incremental considerando los modelos económicos actuales.

Una de las alternativas al plástico son los polímeros compuestos. Estos son materiales compuestos por fibras embebidas en una matriz polimérica. En este caso, las fibras son naturales ya que provienen de un desperdicio agrícola. Las fibras proveen de fuerza y dureza al material, mientras que el polímero asegura la alineación de las fibras, hace transferencia de estrés y le provee de protección contra agentes externos a la fibra. La matriz polimérica puede ser de polímeros a base de petróleo o de fuentes renovables, pero en el caso de los materiales biodegradables ambos componentes deben ser de fuentes renovables y biodegradables.

Uno de los factores limitantes del uso de este tipo de materiales es la resistencia y la hidrofobicidad de la fibra. Estos problemas se han trabajado en estudios previos con algunos tipos de fibras y se ha determinado que con la ayuda de pretratamientos antes de realizar la mezcla con el polímero se logra una mejor adhesión y una mejora en la cantidad de celulosa presente, lo cual mejora aumenta la fuerza de fibra. Los pretratamientos utilizados deben estar diseñados para cada fibra, ya que las fibras vegetales tienen características químicas diferentes.

En el caso del bagazo de agave, solamente se ha utilizado para la formulación de polímeros oxo-degradables, los cuales son materiales compuestos por un polímero a

base de petróleo y una fibra lignocelulósica sin pretratamiento. Este material logra una disminución del 30% en la utilización de plástico derivado del petróleo, pero no logra producir un material biodegradable. En este trabajo se buscará encontrar un pretratamiento que aumente la cantidad de celulosa en la fibra de bagazo de agave para lograr una fibra con las características adecuadas para la producción de un bioplástico.

IV. Justificación

En los últimos años, los polímeros reforzados con fibras naturales han recibido mucha atención debido a que las fibras tienen muchas propiedades convenientes, como por ejemplo que son de bajo costo, son biodegradables, no son tóxicas y tienen baja densidad. Entre las más utilizadas están la linaza, el bambú, el sisal, el bagazo de caña, el cáñamo y el yute (Moriana *et al.*, 2014).

Uno de los problemas más frecuentes de los biopolímeros reforzados con fibras naturales es la desunión de los componentes con el tiempo debido a la capacidad de absorción de humedad de las fibras, su escasa humectabilidad y la adhesión insuficiente entre las fibras sin tratamiento y la matriz polimérica (Gassan and Bledzki, 1999). Las características hidrofílicas de las fibras vegetales celulosas por la presencia de grupos hidroxilo y otros grupos polares, genera dificultades en la homogenización de la fibra con los biopolímeros que son de características hidrofóbicas (Ku *et al.*, 2011; Jariwala and Jain, 2019). Aunque se pueden obtener propiedades mecánicas aceptables utilizando las fibras sin hacer un tratamiento previo para hacer biocompuestos, se ha reportado que dar pretratamiento a la fibra mejora las propiedades de humectabilidad, modifica la microestructura, la topología de la superficie y los grupos químicos de la superficie, así como la fuerza de tensión (Silva *et al.*, 2000).

En México una fibra de particular interés debido a sus características químicas y a su abundancia, es la fibra que se origina a partir del proceso de producción de tequila, mejor conocida como bagazo de agave.

El bagazo de agave es un residuo contaminante debido a las grandes cantidades en que se desecha, pero al mismo tiempo presenta la oportunidad de ser utilizado como fibra para el reforzamiento de polímeros gracias a sus características morfológicas y químicas.

De tal manera, que el propósito de este proyecto fue definir un pretratamiento efectivo para que el bagazo de Agave tequilana Weber var. azul tenga las características adecuadas para la formulación de un biopolímero 100% biodegradable. Fue un

esfuerzo en conjunto entre el Centro de Público de Investigación CIATEJ, quienes realizaron el desarrollo de la fibra y evaluaron posteriormente la biodegradabilidad del bioplástico y el Centro de Tecnología Avanzada CIATEQ realizaron la formulación del material biocompuesto.

V. Hipótesis

El bagazo de *Agave tequilana* Weber var. azul tratado con procesos fisicoquímicos y enzimáticos, tendrá las características adecuadas para ser utilizado en la formulación de un material compuesto biodegradable.

VI. Objetivos

VI.1. Objetivo general

Definir el pretratamiento más efectivo para lograr las características químicas adecuadas para que el bagazo de *Agave tequilana* Weber var. azul pueda ser utilizado en la formulación de un material compuesto biodegradable.

VI.2. Específicos/particulares

- I. Caracterizar fisicoquímicamente las fibras de agave crudas.
- II. Evaluar la modificación de fibras de agave por métodos químicos y enzimáticos.
- III. Caracterizar fisicoquímicamente las fibras modificadas por métodos químicos y enzimáticos.
- IV. Seleccionar la fibra con las mejores características para la formulación del material compuesto. (Mayor cantidad de celulosa, menor cantidad de hemicelulosa, grupos funcionales presentes) para la formulación del material compuesto.
- V. Escalar el proceso de modificación de fibras de agave a nivel piloto.
- VI. Evaluar la biodegradabilidad de los materiales compuestos a base de fibra de agave desarrollados por CIATEQ.

VII. Metodología y materiales

VII.1 Diseño experimental pretratamientos

La metodología propuesta para los pretratamientos se planteó en 7 etapas, las cuales están ilustradas en la figura 5. Se inició el con la caracterización de las muestras de bagazo crudo por el método del Laboratorio Nacional de Energías Renovables (NREL). En la siguiente etapa se aplicaron los pretratamientos ácidos a diferentes concentraciones y tiempos al bagazo crudo y se caracterizaron las fibras para conocer los resultados. Posteriormente se aplicaron los pretratamientos enzimáticos variando solamente la concentración del coctel enzimático, nuevamente se realizó la caracterización de las fibras y se analizaron los resultados.

De estos primeros dos experimentos se seleccionaron los pretratamientos con los mejores resultados para aplicar un pretratamiento secuencial, el cual consistió en aplicar un pretratamiento ácido y posteriormente uno enzimático a la misma fibra. Se caracterizó de nuevo y en base a todos los resultados se pasó a la siguiente etapa, en la que se hizo el escalamiento del mejor pretratamiento. Se envió el bagazo pretratado junto con muestras de bagazo crudo a CIATEQ para la etapa 6 en la que ocurrió la formulación del biopolímero. Finalmente, el equipo de CIATEQ envió los nuevos biopolímeros a CIATEJ para realizarles pruebas de biodegradabilidad de la etapa 7, dichas pruebas se realizaron en suelo y en agua para comprobar la biodegradabilidad en diferentes medios en los que pudieran ser desechados.

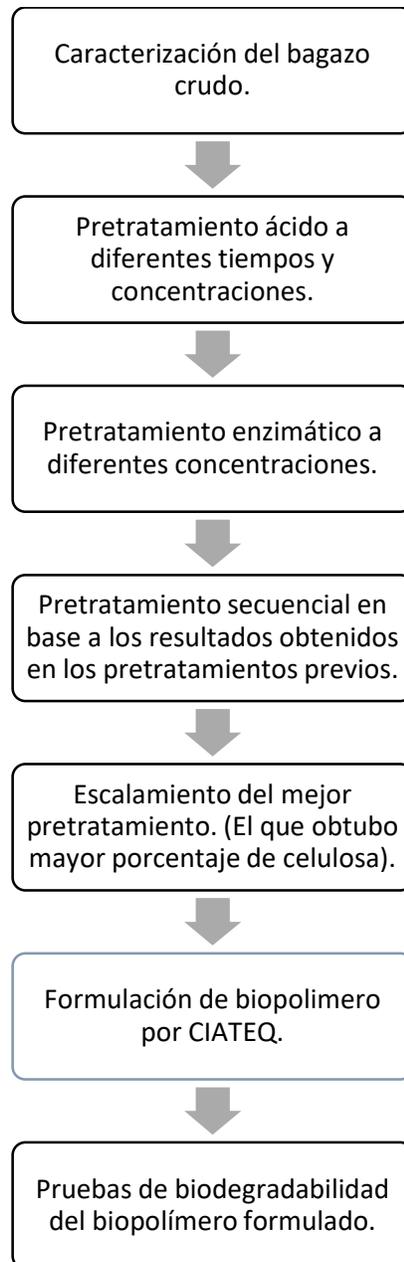


Figura 5. Etapas del proceso experimental.

VII.2 Origen de bagazo *Agave tequilana* Weber var. azul

El bagazo de *Agave tequilana* Weber var. azul fue colectado de una fábrica productora de tequila en el estado de Jalisco, en el municipio de Amatitán. Donde se utiliza el proceso de extracción de jugo por difusor para evitar que el bagazo fuera recalcitrante por cocción en horno.

VII.3 Pretratamientos químicos y enzimáticos de bagazo de *Agave tequilana* Weber var. azul

VII.3.1 Pretratamiento ácido

El bagazo de *Agave tequilana* Weber var. azul ya seco y con un peso constante, fue molido a un tamaño de 125 mm, tamaño correspondiente a una malla de número 20. Una vez realizado el molido de la muestra, se realizó el pretratamiento ácido, se aplicaron diferentes concentraciones de ácido sulfúrico (H_2SO_4) (Fermont PA Cert) por diferentes rangos de tiempo a las fibras de bagazo. Las concentraciones y los intervalos de tiempo se administraron de acuerdo con la Tabla 3 (Ilustración 1).

Las fibras de bagazo secas se sumergieron en una solución ácida al 10% de sólidos (V/V) y se colocaron en una autoclave Sterilizer SM510 Yamato (Estados Unidos) a 121 °C. Se realizaron 5 repeticiones de cada pretratamiento (n=5). Posteriormente las fibras pretratadas se lavaron con agua del grifo y posteriormente se secaron a 60 °C en un horno de convección durante 24 h. Una vez que el bagazo estuvo completamente seco, se molió en una licuadora Krups® modelo gx410011 (Alemania) a malla número 80 (177 mm) para caracterizar la muestra por la metodología del Laboratorio Nacional de Energía Renovable (NREL) (Sluiter *et al.*, 2012).

Tabla 3. Código, tiempo (min) y concentración (%) en los pretratamientos ácidos.

Código	Tiempo en Autoclave (min)	Concentración de Ácido Sulfúrico (%)
A5-1	5	1
A5-1.5	5	1.5
A5-2	5	2
A10-1	10	1
A10-1.5	10	1.5
A10-2	10	2
A15-1	15	1
A15-1.5	15	1.5
A15-2	15	2

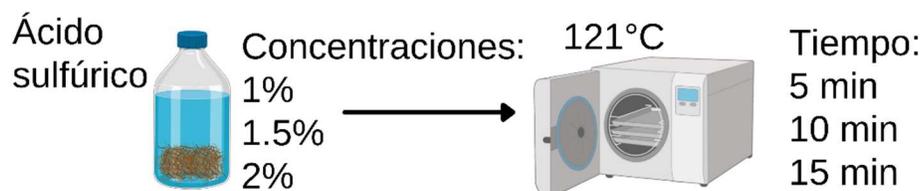


Ilustración 1. Diagrama de pretratamiento ácido.

VII.3.2 Pretratamiento enzimático

El bagazo de *Agave tequilana* Weber var. azul seco y con peso constante, fue molido a un tamaño de 125 mm, tamaño correspondiente a una malla de número 20. Una vez realizado el molido de la muestra, se realizó el pretratamiento enzimático al 10% de sólidos con el coctel enzimático Cellic® HTec2 (Novozymes®) que contiene hemicelulasas y celulasas. Se aplicaron diferentes concentraciones de enzimas Cellic® HTec2 a las fibras de bagazo. Las concentraciones se evaluaron de acuerdo a la Tabla 4 (Ilustración 2).

Las muestras de fibra de bagazo se sumergieron en las diferentes soluciones enzimáticas durante 24 h con un PH de 5 y una temperatura constante de 45°C en una incubadora agitadora INFORS HT Multitron Pro (Suiza). Esto se analizó con cinco repeticiones (n = 5). Después del pretratamiento, las fibras se lavaron con agua del grifo y posteriormente se secaron a 60 °C en un horno de convección durante 24 h.

Una vez que el bagazo estuvo completamente seco, se molió en una licuadora Krups® modelo gx410011 (Alemania) hasta malla número 80 (177 μ m) y caracterizado por la metodología NREL (Sluiter *et al.*, 2012).

Tabla 4. Código, tiempo (h), y porcentaje de concentración de enzimas (Cellic® HTec2) en los pretratamientos enzimáticos.

Código	Tiempo en Shaker (h)	Concentración de Cellic® HTec2 (%)
E24-1.5	24	1.5
E24-3	24	3
E24-4.5	24	4.5

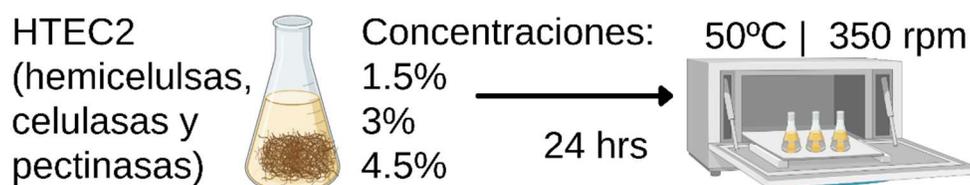


Ilustración 2. Diagrama pretratamiento enzimático.

VII.3.3 Pretratamiento ácido-enzimático en secuencia

Las concentraciones ácidas y enzimáticas que presentaron mayor fracción de celulosa en experimentos ácidos y enzimáticos anteriores fueron seleccionadas para un experimento secuencial, que combinó ambos pretratamientos. Los pretratamientos se evaluaron de acuerdo a la Tabla 5 (Ilustración 3). Las fibras secas de bagazo ATW se sumergieron al 10% de sólidos (V/V) en solución de H₂SO₄ (Ácido Sulfúrico) al 1.5% y se colocaron en una autoclave Esterilizador SM510 Yamato (Estados Unidos) a 121 °C.

Una vez finalizado el primer pretratamiento, las fibras se lavaron con agua del grifo y posteriormente se secaron a 60 °C en un horno de convección durante 24 h. Posteriormente se ajustaron a un pH de 5 y se sumergieron al 10% de sólidos (v/v) en solución de Cellic® HTec2 (enzimas de Novozymes®) al 1.5% y a una temperatura constante. temperatura de 45 °C en un agitador incubador INFORS HT Multitron Pro, (Suiza). Esto se analizó con cinco repeticiones (n = 5). Después del pretratamiento, las fibras se lavaron y secaron como se describió anteriormente. Se molieron en una licuadora Krups® modelo gx410011 (Alemania) a malla número 80 (177 mm) para caracterizar la muestra por la metodología NREL (Sluiter *et al.*, 2012)

Tabla 5. Código, porcentaje de concentración de ácido, tiempo (h) de reacción, porcentaje de concentración de enzimas (Cellic® HTec2) en los pretratamientos secuenciales ácido-enzimáticos.

Código	Pretratamiento ácido		Pretratamiento enzimático	
	Concentración ácido sulfúrico (%)	Tiempo (min)	Tiempo en Shaker (h)	Concentración Cellic® HTec2
E6-1.5	1.5	10	6	1.5
E12-1.5	1.5	10	12	1.5
E24-1.5	1.5	10	24	1.5

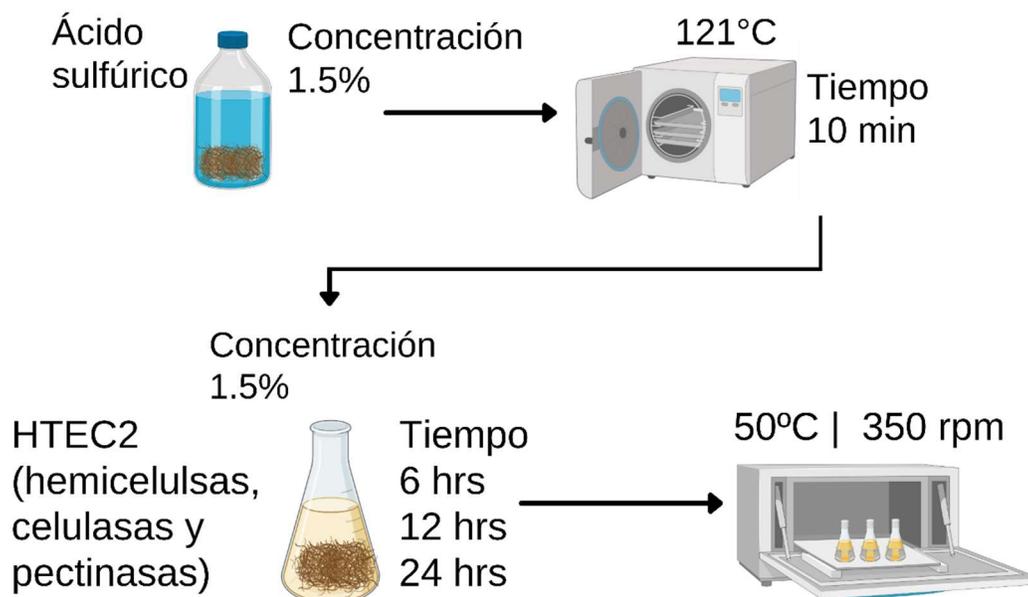


Ilustración 3. Diagrama pretratamiento secuencial ácido - enzimático.

VII.4 Caracterización química de bagazo *Agave tequilana* Weber var. azul

El bagazo de *Agave tequilana* Weber var. azul fue caracterizado para determinar el porcentaje de celulosa, lignina y hemicelulosa existente en la fibra. Para la determinación de estos porcentajes se realizó un análisis por medio de la metodología NREL 2012 para determinación de carbohidratos estructurales y lignina en biomasa. Este método utiliza una hidrólisis en dos pasos para fraccionar la biomasa y hacer que sea más fácil de medir. La lignina se fracciona en material insoluble en ácido y material soluble en ácido. Durante la hidrólisis, los carbohidratos poliméricos se hidrolizan en formas monoméricas, que son solubles en el líquido de hidrólisis (Naik *et al.*, 2010; Sluiter *et al.*, 2012).

Se pesaron $300 \pm 10,0$ mg de muestras de bagazo de agave molido y se colocaron en tubos de ensayo. Luego se agregaron a cada tubo 3.00 ± 0.01 ml (o 4.92 ± 0.01 g) de ácido sulfúrico al 72% (H_2SO_4) (Fermont PA Cert). Los tubos se colocaron en un baño de agua a 30 ± 3 °C y se incubaron durante 60 ± 5 min. Al completar la hidrólisis de 60 min, los tubos se retiraron del baño de agua y se diluyeron a una concentración de ácido del 4 % agregando $84,00 \pm 0,04$ ml de agua destilada y se colocaron en frascos de vidrio sellados. Los matraces se colocaron en una autoclave durante una hora a 121 °C. Después de completar el ciclo de la autoclave, los hidrolizados se dejaron enfriar lentamente a temperatura ambiente antes de retirar las tapas. Una vez enfriadas, las soluciones se filtraron al vacío a través de crisoles filtrantes previamente pesados (Sluiter *et al.*, 2012).

Las soluciones hidrolizadas se colocaron en viales de 5 mL y se evaluaron sin dilución por HPLC ©Agilent Technologies, Inc., LC Agilent 1220 Infinity, Alemania. El sistema de HPLC se equipó con un detector de índice de refracción y la columna Bio-Rad Aminex® HPX-87P con una columna de protección anti cenizas iónica H^+/CO_3^- (Hames *et al.*, 2003). El flujo utilizado fue 0.7 ml/min, a 37 °C con una fase de H_2SO_4 5mM y el volumen de inyección fue de 20 μ l.

Los crisoles filtrantes se secaron durante 12 horas en un horno de convección y posteriormente se enfriaron en un desecador. Una vez enfriados, se pesaron.

VII.5 Análisis estadístico pretratamientos

El análisis de datos se realizó con el software GraphPad Prism®, versión 8. Los experimentos se realizaron con $n=5$ y los resultados se expresan como media \pm error estándar de la media. La normalidad de los datos se evaluó con la prueba de Shapiro-Wilk. Cuando los datos carecían de normalidad, las diferencias estadísticas se evaluaron con Kruskal-Wallis con un intervalo de confianza del 95%. En los casos en que los datos estaban en una distribución normal, las diferencias se evaluaron con un

ANOVA de dos vías seguido de una prueba ad hoc de Tuckey con un intervalo de confianza del 95%.

VII.6 Análisis composicional

VII.6.1 Análisis con espectrofotómetro

Para el análisis infrarrojo se empleó un espectrómetro ©Agilent Technologies 4500 Series (Alemania) FTIR. La metodología seguida fue la práctica estándar para técnicas generales de obtención de espectros infrarrojos para análisis cualitativo (ASTM E1252 – 98 (2007)).

El intervalo de análisis fue de 650 a 4000 cm^{-1} y se realizaron 32 escaneos. Las muestras estaban en estado sólido.

VII.6.2 Análisis con microscopio electrónico de barrido

Para evaluar la modificación en la estructura superficial del bagazo después de los tratamientos se realizó microscopía electrónica de barrido operando a 20 kV con microscopía electrónica de barrido (Jeol, IT100, Benelux). Las muestras de bagazo de agave se colocaron en un parche de carbón sobre un pin de aluminio. La fibra cruda y la tratada se observaron en detalle con las imágenes de alta resolución.

VII.6.3 Análisis termogravimétrico

El análisis termogravimétrico se realizó con un TGA TA-Instruments Q500 (Estados Unidos). El método estándar utilizado fue el método de prueba ASTM E 1131-08 para análisis de composición por termogravimetría. Se colocaron muestras de aproximadamente 10 mg en bandejas de platino; se calentaron de 20 a 900 °C a 10 °C

min-1, bajo atmósfera de nitrógeno de 20 a 650 °C (100 mL min-1), luego de 650 °C hubo un cambio de atmósfera a oxígeno.

VII.7 Análisis de carbono orgánico total

En el análisis de carbono orgánico total (TOC por sus siglas en inglés) se cuantificó la cantidad de carbono unido a un compuesto orgánico. Se realizó la cuantificación por la cantidad de dióxido de carbono que se genera al momento de oxidar la materia orgánica en condiciones especiales. En este análisis se midió el carbono total (TC) presente, así como el carbono inorgánico total (TIC). El carbono orgánico total (TOC) se obtuvo haciendo la resta de carbono inorgánico total a carbono total (Cromtek, 2020).

$TC \text{ (carbono total)} - TIC \text{ (carbono inorgánico total)} = TOC \text{ Carbono orgánico total}$

Para el análisis de sólidos se utilizó Módulo De Sólidos SSM-5000A Para TOC-VC – Shimadzu. El método para la medición del carbono total consistió en la combustión catalítica a 900 °C. El rango de medición para TC fue de 0.1 mg a 30 mg de carbono y la cantidad de muestra fue de .02 gramos. El tiempo del análisis fue de 5 a 6 minutos con caudal gaseoso 500 mL/min.

VII.8 Determinación de biodegradabilidad en suelo

Las fibras que fueron seleccionadas como las mejores de acuerdo con las características fisicoquímicas que se obtendrán por el pretratamiento, fueron enviadas a CIATEQ donde se realizó la formulación del biopolímero. Una vez formulado, CIATEQ envió una muestra para ser analizada. Se está utilizando un Método basado en la prueba estándar ASTM D5338 para determinar la biodegradación aeróbica de materiales plásticos en condiciones controladas de compostaje, incorporando temperaturas termofílicas. Este método de prueba determina la tasa de biodegradación aeróbica de materiales plásticos expuestos a un medio ambiente de composta

controlado bajo condiciones de laboratorio a temperaturas termofílicas. Está diseñado para obtener resultados que sean repetibles y reproducibles bajo condiciones controladas que asemejan condiciones de compostaje, donde se logran temperaturas termofílicas (ASTM D5338, 2018).

Para cumplir con los requerimientos de la metodología, la composta utilizada provino de residuos urbanos, se colectó el 24 de mayo del 2021. El inóculo de la composta estuvo cuatro meses bien aireada y fue tamizada en una malla de <10 mm. En la prueba de emisión de mg de CO₂ por gramo de sólidos volátiles los inóculos produjeron \geq a 50 mg de CO₂ en los primeros días de la prueba, lo cual se encuentra en el rango de 50 a 150 mg de CO₂ estipulado por la norma. La composta está libre de materiales inertes de tamaño grande (vidrio, piedras, metales, etc.) y tiene suficiente porosidad para permitir y mantener las condiciones aerobias deseadas.

La prueba aerobia fue seleccionada debido a que la composición del bioplástico contiene grupos funcionales alcohol, éter o éster. Con esta prueba se pudo determinar si los bioplásticos se pueden desintegrar mediante microorganismos en presencia de oxígeno produciendo CO₂. El análisis de biodegradabilidad aerobio se realizó por 4 meses. En esta prueba se utilizó una pequeña cantidad de las muestras (0.5 g), la cual pudo encontrarse en forma de película, pellets, partículas pequeñas, granulado o en polvo. La muestra fue colocada en una porción de suelo (100 g) proveniente de composta. Se mezcló de forma homogénea la muestra con la porción de suelo y se colocaron 30g en un frasco pequeño sin tapa, el cual a su vez se colocó en el frasco grande. En el frasco grande también se colocó otro frasco pequeño con 10 ml de una solución de NaOH al 0.5N y una gota de fenolftaleína al 1%, la cual tiñe la solución de un color violeta la cual fue perdiendo el color al paso del tiempo ya que la solución irá absorbiendo el CO₂. Se cerró el frasco grande con la tapa y se adhirió Parafilm alrededor de ella para evitar fugas de las emisiones. El sistema estuvo a una temperatura constante de entre 30 °C y 40 °C.

La evaluación del contenido de carbono orgánico se realizó por medio de titulación de hidróxido de sodio con una solución de HCl al 0.05 N, la titulación se realizó cada 4 días las primeras 4 semanas y posteriormente cada 7 días por el resto del tiempo de la prueba de biodegradabilidad. Se registró el C emitido y calcular C orgánico con la siguiente ecuación:

$$gC \text{ emitidos} = \frac{12g}{mol} ([NaOH]V_{NaOH} - [HCL]V_{HCl})$$

Finalmente se graficó el acumulativo de la producción de C. (Aguilar Salazar, et al., (2020)).



Ilustración 4. Frascos con composta y muestras de bioplástico.

VII.9 Determinación de biodegradabilidad en agua

Se realizó la prueba de biodegradabilidad aerobia en agua de los biopolímeros para analizar la capacidad de biodegradación de los materiales en diferentes medios. Fue seleccionada la prueba aerobia debido a que la composición del bagazo de agave y el bioplástico contienen grupos funcionales alcohol, éter o éster. Con esta prueba se puede determinar si un compuesto orgánico se desintegra mediante microorganismos en presencia de oxígeno produciendo CO₂.

Previo al montaje del experimento se dejó oxigenando agua destilada 24 horas para lograr agua saturada al 100% de O₂. Una vez que la medición de oxígeno disuelto dio el 100% se mezclaron las cantidades mostradas de las soluciones en la tabla 6.

Tabla 6. Preparación de soluciones para biodegradabilidad aeróbica en líquido.

Volumen (en mL)	Total	Muestra	Blanco	Control
Agua saturada de O ₂	10000 mL	800 mL	800 mL	800 mL
Solución buffer de fosfatos	15 mL	1.5 mL	1.5 mL	1.5 mL
Solución de MgSO ₄	15 mL	1.5 mL	1.5 mL	1.5 mL
Solución de Ca	15 mL	1.5 mL	1.5 mL	1.5 mL
Solución de Fe	15 mL	1.5 mL	1.5 mL	1.5 mL
Solución de Glucosa 150 mM	-	-	-	0.354 mL
Solución de la muestra	-	1.8 ±.2 mg	-	-
Inóculo	2.154 mL	.2154 mL	.2154 mL	.2154 mL
Agua saturada de O ₂		692.5 mL	692.5 mL	692.5 mL
Vf	15000 mL	1500 mL	1500 mL	1500 mL

Tabla adaptada de (Aguilar Salazar, 2020)

La solución fue colocada en botellas Winkler de 500 ml (Para demanda química de oxígeno (DBO)), estas fueron llenadas hasta el cuello, se agregaron 1.8 mg de muestra de cada bioplástico mostrado en la tabla 7 y se taparon evitando dejar cualquier burbuja de aire. Este procedimiento se realizó con todas las muestras, el control y el blanco. Las muestras fueron agitadas dos veces por semana durante los 3 meses determinados para la prueba de biodegradabilidad.

Tabla 7. Muestras de bioplásticos.

Muestra de bioplástico	Peso de la muestra (mg)
Almidón termoplástico (TPS)	1.8
Almidón termoplástico con agave (TPSA)	1.8
Ácido poli láctico (PLA)	1.8
Ácido poli láctico con agave 1 (DOE6)	1.8
Ácido poli láctico con agave 2 (DOE7-05)	1.8

Se determinó la cantidad de oxígeno presente al colocar las muestras y se determina la cantidad de oxígeno presente al retirar las muestras al final de su observación.

Para calcular el porcentaje de biodegradabilidad de acuerdo con la cantidad de carbono orgánico que se colocó al inicio. Inicialmente, se calculó la cantidad de oxígeno consumido:

$$\Delta O_2 = \frac{(\% O \text{ inicial} - \% O t)}{100} (6.7889)$$

Donde:

ΔO_2 : es el oxígeno consumido.

%O: es el porcentaje de oxígeno disuelto al inicio (tiempo 0) o al tiempo t.

6.7889: es la conversión a mg/L de oxígeno en Guadalajara (713.3 hPa, 20 °C de temperatura y con la concentración de cloruros descrita arriba en las soluciones).

El porcentaje de biodegradación (%B) se calcula sobre la cantidad de carbono que se colocó posterior a restar la disminución del blanco:

$$\%B = \frac{(1.5)(12)(\Delta O_2 \text{ muestra} - \Delta O_2 \text{ Blanco})}{(32)(TOC_{\text{muestra}} * P_{\text{muestra}})}$$

Donde:

1.5: es el Volumen final al que se diluyó la muestra (Litros) (Tabla 6)

12: es el peso atómico del C

ΔO_2 : es el oxígeno consumido de la muestra o del blanco

32: es el peso molecular del O₂

TOC_{muestra}: es la concentración de Carbono orgánico total de la muestra en mg/L

P_{muestra}: es el volumen que se puso de la muestra cuando se preparó la solución (< 1 g, tabla 7) en mg.



Ilustración 5. Pruebas de biodegradabilidad aerobia.

VIII. Resultados y Discusión

VIII.1 Composición del Bagazo de Agave Crudo

La industria tequilera en Jalisco se distingue por la gran cantidad de desechos que produce, en especial el bagazo de agave. Este material se caracteriza por ser una fibra vegetal con una alta cantidad de celulosa; se han reportado valores de celulosa en un rango de 41.90% a 20.85%, de hemicelulosa 18% a 12.24% y de lignina de 21.10% a 17.31 (Kestur G. *et al.*, 2013; Robles-García *et al.*, 2018; Pino *et al.*, 2019). La caracterización del bagazo es fundamental para conocer sus características y posteriormente poder darle una aplicación.

Se caracterizó bagazo de agave crudo con cuatro repeticiones como el control, se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla 8.

Tabla 8. Fracciones de celulosa, hemicelulosa y lignina del bagazo de agave crudo (Muestra control).

Componente	Porcentaje (%)
Celulosa	20.12 ± 0.5
Hemicelulosa	11.54 ± 0.31
Lignina	17.45 ± 1.31

El porcentaje de celulosa está dentro del rango reportado por otros autores; sin embargo, hay también una cantidad importantes de lignina y hemicelulosa, componentes que no son deseables en un material compuesto o biocompuesto. Esta composición difiere de la reportada por Saucedo-Luna *et al.*, (2011), con (42% ± 2% v/v de celulosa, 20% ± 1% v/v de hemicelulosa, un 15% ± 1% v/v de lignina). Hay mucha diversidad en los datos de composición con respecto a los materiales lignocelulósicos debido a diferentes factores como la ubicación, la temporada de cosecha, las prácticas agrícolas y la variedad de plantas (Barton, 1988; Kucharska *et al.*, 2018). Asimismo, se debe considerar que el bagazo es un subproducto de un

proceso agroindustrial, lo que proporciona una fuente adicional de variación composicional (Sluiter *et al.*, 2011).



Ilustración 6. Bagazo de agave crudo parcialmente molido.

Una vez definida la composición inicial del bagazo de agave se realizaron los pretratamientos propuestos, buscando aumentar la fracción de celulosa. Los resultados de dichos procesos se muestran a continuación.

VIII.2 Experimento 1: Pretratamiento ácido

Después del pretratamiento ácido, la composición del bagazo se presenta en la tabla 9. En promedio se observó un aumento del $78.8\% \pm 1.9\%$ en la fracción de celulosa respecto al bagazo de agave crudo. El contenido de hemicelulosa disminuyó, en promedio $30\% \pm 1.4\%$ respecto al bagazo crudo.

Tabla 9. Porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina de la fibra pretratada con ácido.

Código	Porcentaje de celulosa (%)	Porcentaje de hemicelulosa (%)	Porcentaje de lignina (%)
Control	20.1 ± 0.5	11.5 ± 0.3	17.4 ± 1.3
A5-1	36 ± 5.4	9 ± 1	22 ± 0.9
A5-1.5	34 ± 1.1	7 ± 0.7	23 ± 2.8
A5-2	35 ± 1.3	6 ± 1.3	27 ± 2.9
A10-1	35 ± 1	6 ± 0.9	23 ± 0.7
A10-1.5	39 ± 0.8	4 ± 0.5	26 ± 0.8

A10-2	37 ± 2	6 ± 0.8	24 ± 2.8
A15-1	34 ± 1.9	8 ± 0.7	24 ± 0.6
A15-1.5	36 ± 1.4	6 ± 1.1	24 ± 0.6
A15-2	39 ± 1.6	5 ± 0.7	26 ± 4.1

A indica pretratamiento ácido, 5, 10 y 15 indican los minutos en la autoclave y 1, 1.5 y 2 son las concentraciones de ácido sulfúrico utilizadas en porcentaje en la solución.



Ilustración 7. Hidrólisis ácida.



Ilustración 8. Bagazo con pretratamiento ácido.

El contenido de lignina tuvo un aumento estadísticamente significativo en promedio del $41\% \pm 1.4\%$. Los pretratamientos con ácido diluido son parte de la tecnología de vanguardia para pretratar diferentes tipos de fibras lignocelulósicas, ya que promueve la hidrólisis de la hemicelulosa (Canilha *et al.*, 2011). Esta reportado que la hemicelulosa afecta de forma negativa a los biopolímeros debido a su estructura amorfa, ya que reduce la fuerza de la fibra y con esto afecta las características finales del biopolímero (Ray, 2015). El aumento en la proporción de celulosa, debido a la hidrólisis de la hemicelulosa demuestra que el bagazo de agave se ve afectado de forma similar a otras biomásas como por ejemplo el bagazo de caña, el yute, el sisal y el cáñamo (Jariwala and Jain, 2019; Radoor *et al.*, 2020).

En la Figura 6, se muestran los resultados del análisis estadístico entre el control y los diferentes pretratamientos utilizados para aumentar la fracción de celulosa en el bagazo de agave. Los mejores pretratamientos para incrementar la fracción celulósica

fueron A10-1.5 y A15-2. La fracción de celulosa en la fibra aumentó 1.92 veces en el pretratamiento A15-2 en comparación con el control, seguido de A10-1. con un aumento en proporción de 1.91 veces.

La fracción de hemicelulosa se redujo en las fibras pretratadas en comparación con el control. El pretratamiento A15-2 disminuyó un 46% la fracción de hemicelulosa inicial, lo cual fue estadísticamente significativo. Por otro lado, la mayor disminución se observó en el pretratamiento A10-1.5 con un 67% menos que el control.

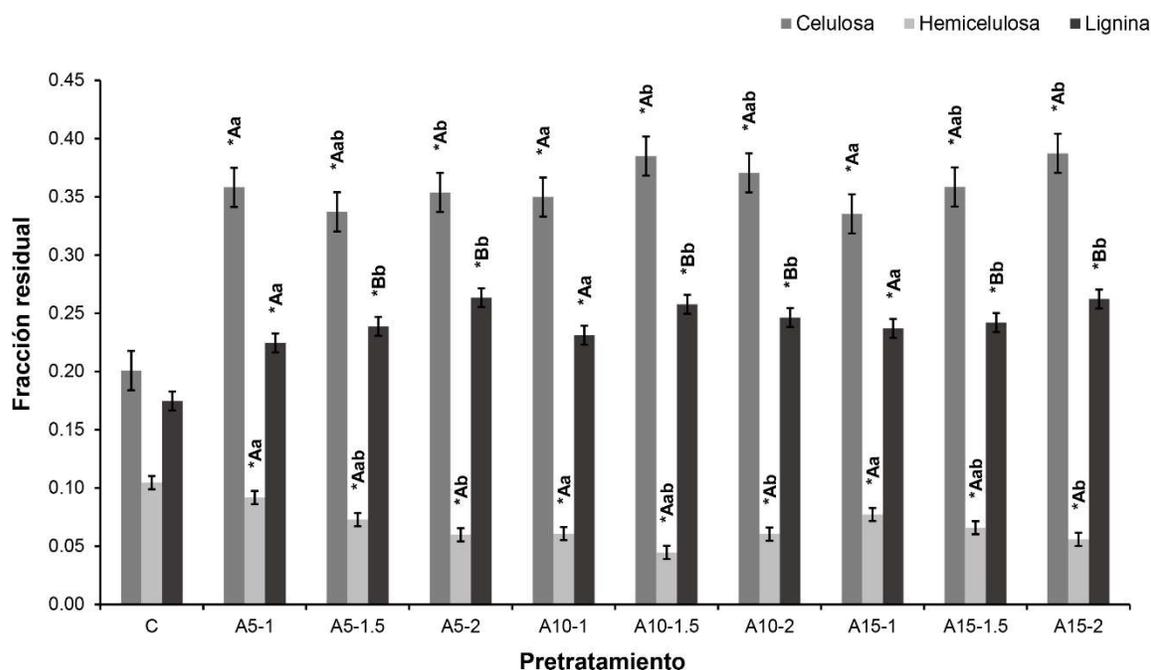


Figura 6. Pretratamientos ácidos con diferentes tiempos en la autoclave y concentraciones de ácido sulfúrico. El asterisco denota diferencia significativa entre el control y cada pretratamiento. Las letras mayúsculas denotan diferencia significativa en el tiempo. Los gráficos son en términos de porcentaje relativo, solo considerando celulosa, hemicelulosa y lignina.

La reducción en la fracción de hemicelulosa confirma que el pretratamiento ácido afecta la unión intermolecular de la fibra (Mosier *et al.*, 2005). El pretratamiento ácido también afectó la fracción de lignina, donde se pudo observar un aumento de 1.47 veces la proporción con respecto a el control en el pretratamiento A10-1.5 y 1.50 veces

más que el control con el pretratamiento A15-2. Estos resultados son comparables a los del estudio de Solarte-Toro (2020) en el que se demostró un alto porcentaje de hidrólisis de hemicelulosa con un pretratamiento de ácido sulfúrico diluido en concentraciones de 1% a 2%. El porcentaje de hidrólisis de celulosa fue casi nulo, y por lo tanto la fracción de celulosa aumenta al disolver la hemicelulosa en el ácido de acuerdo con Solarte-Toro (2019).

En otro estudio donde se buscaba optimizar el pretratamiento con H₂SO₄ diluido en biomasa para el aumento en la fracción de celulosa, se reportó que la concentración óptima fue de 1.76%, una temperatura de 152.6 °C y un tiempo de 21 minutos (Jeong *et al.*, 2010). El resultado obtenido por Jeong *et al.*, es similar al obtenido en este estudio, ya que los mejores pretratamientos fueron los que estuvieron en un rango de 1.5% - 2% de concentración de H₂SO₄. Por otro lado, en el estudio de N. Sritrakul *et al.* 2017 se analizaron pretratamientos con H₂SO₄ diluido a diferentes concentraciones y tiempo para bagazo de caña, el cual tiene una composición similar al bagazo de agave (celulosa 37.6 ± 0.9, hemicelulosa 36.5 ± 0.6, lignina 24.4 ± 0.6). En el mencionado trabajo, los mejores resultados se lograron en un rango de concentraciones del 1% - 2% por 90 minutos y a 121 °C, aunque reportaron una producción de hasta 5 veces más de derivados de furano, ácidos carboxílicos y compuestos fenólicos que en el pretratamiento por 30 minutos en concentraciones de 1%-2% (Sritrakul, Nitisinprasert and Keawsompong, 2017). Estos compuestos son inhibidores de enzimas y del metabolismo celular (Ran *et al.*, 2014), lo cual podría afectar negativamente la rapidez con la que se biodegrada el bagazo al ser desechado si este no es lavado previamente.

VIII.3 Experimento 2: Pretratamiento Enzimático

La composición del bagazo después del pretratamiento enzimático se muestra en la tabla 10. Se puede observar que el aumento de la fracción de celulosa respecto al control fue de alrededor de 1.17 veces. La disminución de hemicelulosa fue de un $10\% \pm 0.4\%$ en promedio respecto al control y la lignina tuvo un aumento del $65\% \pm 0.9\%$.

Tabla 10. Porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina de la fibra pretratada con enzimas.

Código	Porcentaje de celulosa (%)	Porcentaje de hemicelulosa (%)	Porcentaje de lignina (%)
Control	20.1 ± 0.5	11.5 ± 0.3	17.4 ± 1.3
E24-1.5	$23 \pm .7$	11 ± 0.6	28 ± 1.1
E24-3	24 ± 2.1	10 ± 3.2	30 ± 3.6
E24-4.5	24 ± 2	10 ± 0.4	29 ± 2.7

E indica que fue un pretratamiento enzimático, 24 indica el tiempo de reacción de 24 h y 1.5, 3 y 4.5 indican las concentraciones de enzima utilizada en porcentaje.



Ilustración 9. Hidrólisis enzimática.

El análisis estadístico realizado con los datos de la figura 7, indicó que hubo una diferencia significativa en el aumento de la fracción de celulosa del $17\% \pm 0.1$ entre el control y el pretratamiento. Aunque fue un resultado significativo, este fue un 43% menor que el obtenido con el pretratamiento ácido. Como menciona E. Hosseini Koupaie et al. en su artículo, los pretratamientos biológicos (con enzimas, bacterias u

hongos) si logran atacar a la hemicelulosa cuando se aplica un pretratamiento con ellos, pero su efecto se ve limitado por la celulosa cristalina, las barreras de lignina y en algunos casos por la superficie de contacto. Es por lo que se utilizan otros tipos de pretratamientos previos a la utilización de pretratamientos biológicos; Con la finalidad de facilitar el acceso a la hemicelulosa e incrementar su efectividad (Hosseini Koupaie *et al.*, 2019).

Se puede observar en la figura 7 que la diferencia en cuanto a fracción de celulosa entre los pretratamientos no fue significativa. Lo cual indica que el aumento en el volumen aplicado de enzimas no tiene un efecto significativo. De acuerdo con la bibliografía esto se debe en gran parte a la propiedad recalcitrante de la fibra de bagazo de agave (Solarte-Toro *et al.*, 2020). Es por esta razón que se propuso un tercer pretratamiento para el bagazo de agave, utilizando el pretratamiento ácido al inicio y posteriormente un pretratamiento enzimático, para disminuir la propiedad recalcitrante de la fibra alterando su estructura estable y resistente y lograr mejores resultados con las enzimas (Lorenci Woiciechowski *et al.*, 2020).

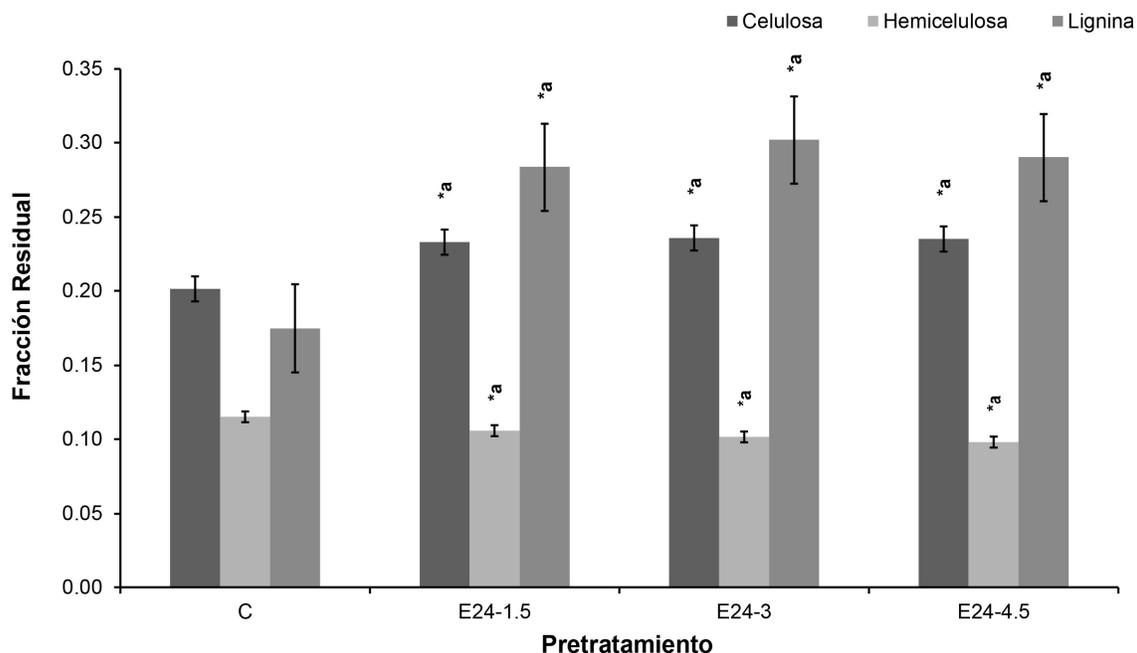


Figura 7. Pretratamiento enzimático con diferentes concentraciones. El asterisco denota diferencia significativa entre el control y el pretratamiento. Las letras minúsculas indican diferencia significativa entre los pretratamientos.

VIII.4 Experimento 3: Pretratamiento ácido-enzimático

Finalmente se evaluaron los resultados del pretratamiento ácido enzimático, el cual tuvo el mismo objetivo de aumentar la fracción de celulosa. Se seleccionó el pretratamiento ácido de 1.5% por 10 minutos en la autoclave, ya que obtuvo en el análisis inicial un 91.4% de aumento en la fracción de celulosa. En el caso del pretratamiento enzimático se seleccionó la menor concentración (1.5%) ya que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los pretratamientos. Para el experimento de un pretratamiento secuencial en bagazo de agave, posterior al pretratamiento ácido se aplicó el pretratamiento enzimático. En la tabla 11 se resumen las composiciones del pretratamiento secuencial.

Tabla 11. Porcentajes de celulosa, hemicelulosa y lignina de la fibra con un pretratamiento secuencial ácido-enzimático.

Código	Porcentaje de celulosa (%)	Porcentaje de hemicelulosa (%)	Porcentaje de lignina (%)
Control	20.1 ± 0.5	11.5 ± 0.3	17.4 ± 1.3
E6-1.5	33 ± 0.3	8 ± 0.1	24 ± 0.6
E12-1.5	32 ± 0.3	7 ± 0.7	25 ± 1.3
E24-1.5	32 ± 0.9	8 ± 0.0	24 ± 0.1

E indica pretratamiento enzimático, 6, 12 y 24 indican las horas de duración del pretratamiento enzimático y 1.5 indica la concentración del pretratamiento enzimático.

En la figura 8 se puede observar que, en promedio, hubo un aumento en la fracción de celulosa de 1.59 veces el control, la hemicelulosa disminuyó un 33% ± 0.4% y la lignina tuvo un aumento del 39% ± 0.3%. Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre el control y los pretratamientos.

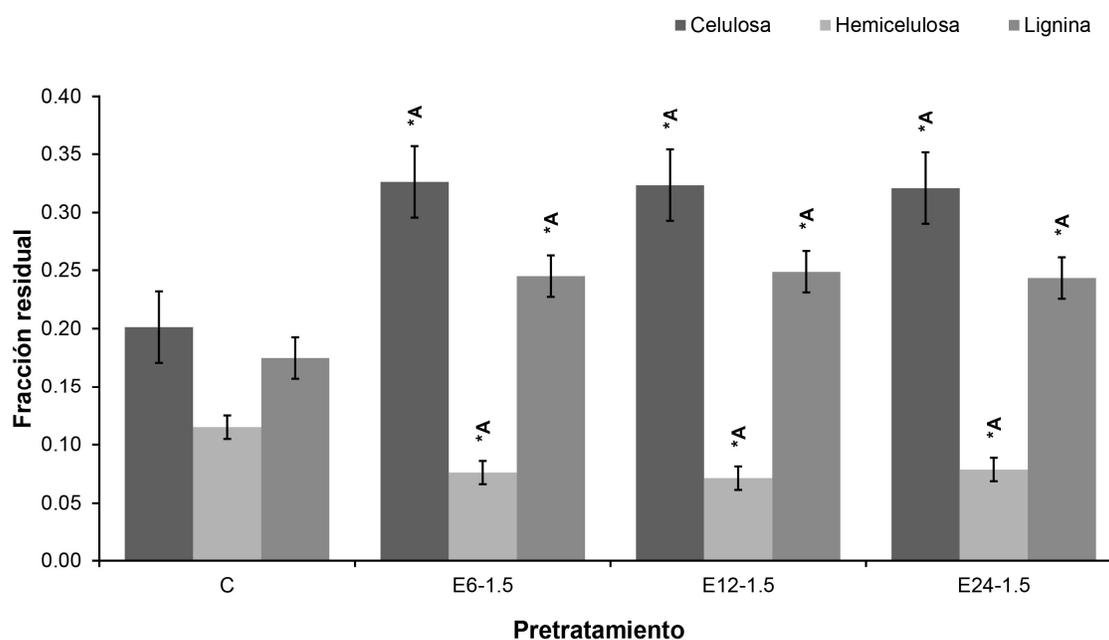


Figura 8. Pretratamiento ácido-enzimático con diferentes concentraciones. El asterisco denota diferencia significativa entre el control y el pretratamiento. Las letras mayúsculas indican diferencia significativa entre los pretratamientos.

En la figura 8, también se puede observar que no existe diferencia estadísticamente significativa en la fracción de celulosa, hemicelulosa o lignina entre E6-1.5, E12-1.5 y E24-1.5. Lo que indica que el factor tiempo en el pretratamiento con enzimas no fue significativo.

Con el pretratamiento secuencial, se obtuvo un aumento del $59\% \pm 0.3\%$ de celulosa, y una disminución de $33\% \pm 0.4\%$ de la fracción de hemicelulosa, los cuales son estadísticamente significativos. Se puede observar que el aumento en la fracción de celulosa es menor al aumento que se logró con el pretratamiento ácido; esto se debió a que el pretratamiento enzimático posterior al pretratamiento ácido causó una disminución en la fracción de celulosa. Ya que, aunque el coctel enzimático HTec2 está recomendado en el manual de Novozymes para biomasa pretratado con ácido diluido, y que tiene una alta capacidad de convertir la hemicelulosa en azúcares fermentables (Novozymes, 2010), también contiene en su formulación una pequeña fracción de enzimas celulasas que pueden hidrolizar celulosa.

Finalmente, en la figura 9 se realizó la comparación entre los mejores resultados de cada pretratamiento y el control (control (C), pretratamiento ácido (A), pretratamiento enzimático (E), pretratamiento ácido-enzimático (A-E)). En este estadístico, lo más importante es observar que la diferencia en los resultados de los pretratamientos es estadísticamente significativa. Los mejores resultados se obtuvieron con el pretratamiento ácido con un 65% más en la fracción de celulosa que el pretratamiento enzimático y 18% más que el pretratamiento en secuencia (ácido-enzimático). En porcentaje de hemicelulosa, el mejor resultado fue el ácido nuevamente con una disminución del 57% más que en el caso del pretratamiento enzimático y un 41% menor que el ácido-enzimático. En el caso del pretratamiento enzimático se pudo observar que, aunque si hubo una diferencia estadísticamente significativa, fue el pretratamiento que obtuvo los resultados más bajos en cuestión de aumento de fracción de celulosa con un aumento de $17\% \pm 0.1\%$, y una disminución de hemicelulosa del $10\% \pm 0.9\%$ respecto al control. Varios investigadores han reportado resultados similares (Sannigrahi, Ragauskas and Miller, 2008; Agbor *et al.*, 2011;

Solarte-Toro *et al.*, 2020), donde el pretratamiento enzimático por sí solo no logra afectar de manera significativa la estructura lignocelulósica debido a su característica recalcitrante. Por otro lado, los pretratamientos ácidos, especialmente con H₂SO₄ tienen mucha efectividad debido a su capacidad de romper enlaces glucosídicos. El pretratamiento secuencial ácido-enzimático tuvo mejores resultados que el pretratamiento enzimático porque como lo menciona Jagannathan *et al.* 2017, el pretratamiento ácido mejora la accesibilidad de las enzimas a la hemicelulosa y celulosa de la biomasa y permite la rápida liberación de azúcares reductores. Aunque, la accesibilidad de las enzimas a la celulosa logra un efecto de disminución en la fracción de celulosa (Jagannathan, Muthukumaran and Tamilarasan, 2017), lo cual no es un resultado positivo en este estudio ya que se busca obtener la mayor fracción de celulosa posible. Por lo que el pretratamiento con mejores resultados para el aumento de la fracción de celulosa fue el de ácido sulfúrico.

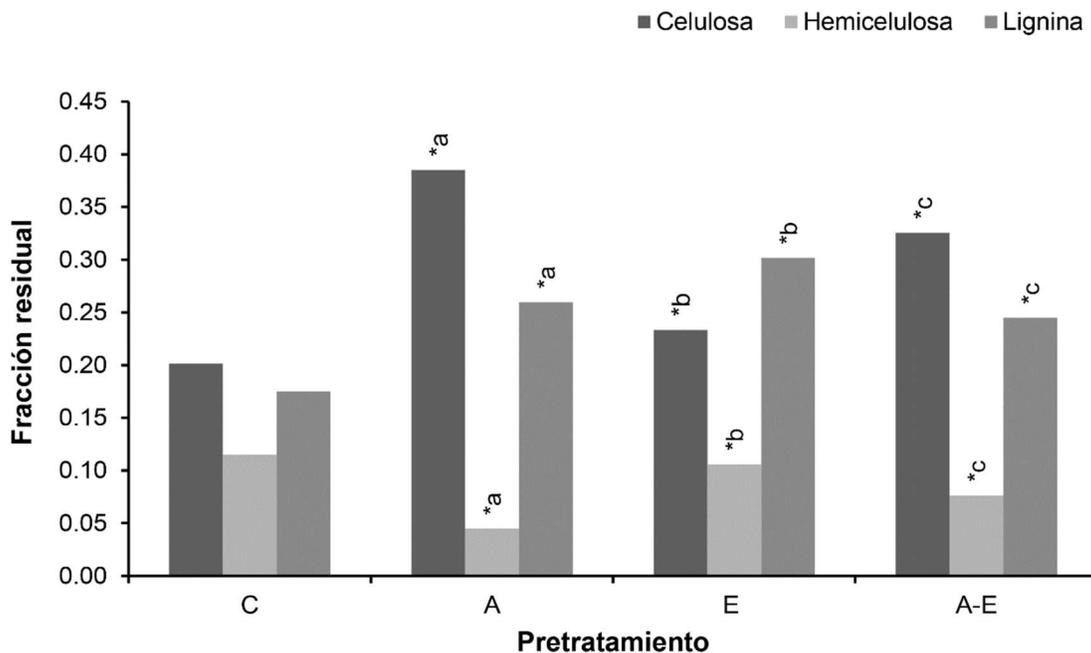


Figura 9. Comparación de los mejores resultados entre pretratamientos.

Para el pretratamiento ácido se realizó un análisis de los factores de tiempo, concentración y la conjunción de ambos, para conocer cuales tuvieron un efecto estadísticamente significativo. En la tabla 12 podemos observar los resultados. Al igual que (López-Arenas *et al.*, 2010), se confirmó que la concentración de ácido fue un factor determinante en el resultado del pretratamiento, ya que, es un factor estadísticamente significativo. López-Arenas observó la importancia del factor tiempo en la hidrólisis de hemicelulosa, esta observación va acorde a los resultados obtenido en la tabla.

El efecto del tiempo en conjunción con el efecto de la concentración del ácido fue estadísticamente significativo en el caso de la celulosa y la hemicelulosa, pero no en el caso de la lignina. Lo cual difiere con (Sriariyanun *et al.*, 2017), ya que ellos reportaron que no hay efecto significativo antes de los 60 minutos en pretratamientos con ácido.

En el caso del pretratamiento ácido-enzimático se evaluó el efecto del tiempo en el resultado del pretratamiento. Se observó que este fue estadísticamente significativo, lo cual concuerda con los resultados publicados por (Han *et al.*, 2012), en los que observó que el efecto de la hidrólisis enzimática era más efectivo al aumentar el tiempo de la hidrólisis hasta las 24 horas. Pasando 30 horas, iba disminuyendo la producción de azúcares reductores debido al aumento del producto de la hidrólisis.

Tabla 12. Efecto de la concentración de ácido, tiempo de reacción, concentración de enzimas y pretratamientos secuenciales en las fracciones de celulosa, hemicelulosa y lignina. Se determinó mediante análisis de varianza unidireccional con GraphPad Prism software® versión 8, seguido de una prueba ad hoc de Tuckey con un intervalo de confianza del 95%.

Pretratamientos e interacciones	Valor P (Error tipo III)		
	Celulosa	Hemicelulosa	Lignina
Pretratamiento ácido			
Tiempo	0.0900	<0.0001	0.9402
Concentración ácida	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Tiempo * Concentración	0.0069	.0022	0.6789

Pretratamiento enzimático

Concentración enzimática	0.0017	<0.0001	0.0005
Pretratamiento combinado			
Tiempo (Hidrolisis enzimática)	<0.0001	<0.0001	<0.0001

Posterior a la caracterización, se realizaron más análisis de composición al bagazo de agave pretratado.

VIII.5 Análisis de fibras por espectrofotómetro FTIR

El análisis FTIR se realizó para identificar a los grupos funcionales presentes en cada muestra de bagazo de agave pretratada (pretratamiento ácido 1.5% 10 min, pretratamiento enzimático 1.5% y pretratamiento ácido 1.5%-enzimático 1.5% por 6 horas), en la Figura 10 se presentan los espectros FTIR del bagazo de agave. En el espectro FTIR presentado se observan diferentes picos, el primer pico fuerte y ancho se observó a 3321 cm^{-1} , este está asociado con el grupo de alcohol de estiramiento O-H unido intermolecularmente, particularmente de los grupos hidroxilo que se encuentran en la celulosa, lo que indica que la presencia de agua disminuyó con los pretratamientos (Oh *et al.*, 2005; Zhuang *et al.*, 2020). Este pico disminuyó con todos los pretratamientos, especialmente con el pretratamiento enzimático. Los picos en 2920 cm^{-1} corresponden al estiramiento C-H de los grupos metileno (Sidi-Yacoub *et al.*, 2019). Donde se observó una disminución de la absorbancia en este pico en los diferentes pretratamientos. Nuevamente, la mayor disminución se observó en el pretratamiento enzimático. Esta disminución es causada por la degradación de la celulosa y una fracción cristalina aumentada, es por eso que vemos en el caso del pretratamiento enzimático una disminución de alargamiento tan marcada, y en el pretratamiento secuencial vemos también una disminución de la fracción de celulosa respecto al control (Naranjo *et al.*, 2016; Kubovský, Kačíková and Kačík, 2020). Estos resultados concuerdan con la caracterización de las muestras de pretratamiento enzimático y ácido-enzimático.

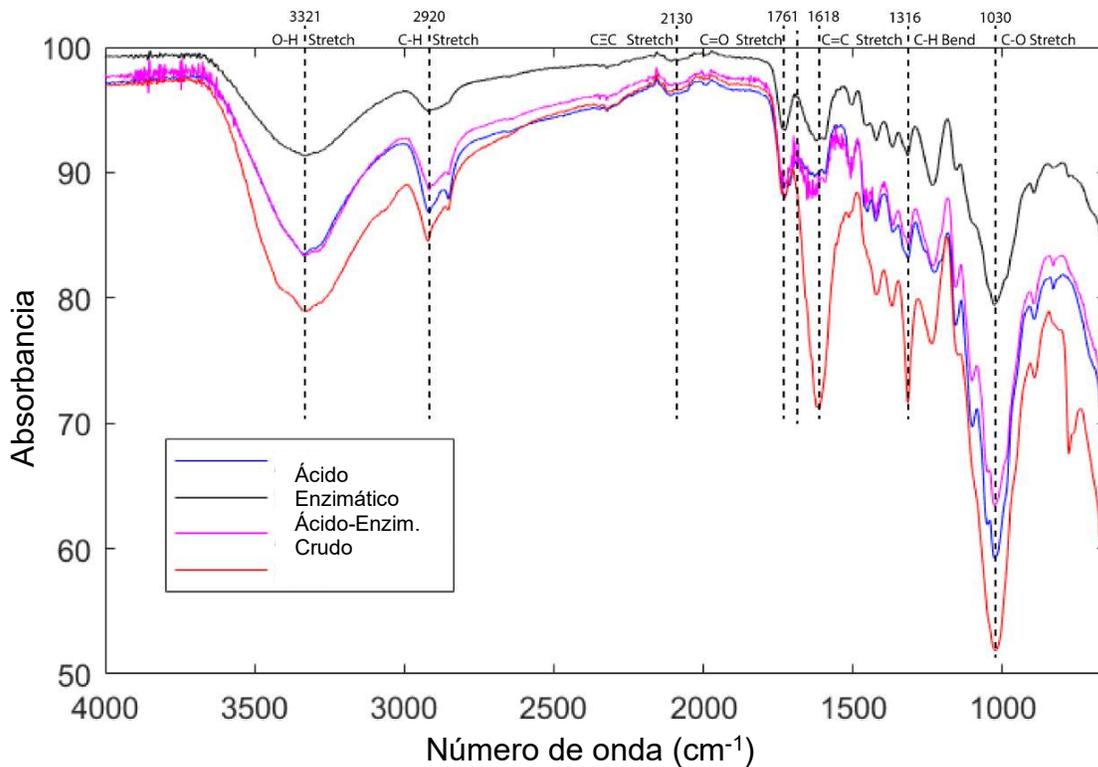


Figura 10. Análisis FTIR de bagazo de agave crudo y pretratado.

El siguiente pico débil a 2130 cm⁻¹ corresponde al alquino terminal (mono sustituido). Este pico se mantiene después de la mayoría de los pretratamientos, excepto el enzimático. El pico alrededor de 1761 cm⁻¹ se debe a la vibración de estiramiento del grupo carbonilo C=O en el componente del xilema de la hemicelulosa y en el grupo químico de la lignina (Sinha and Panigrahi, 2009).

El siguiente pico en 1618 cerca de la banda de 1600 cm⁻¹ se refiere a la flexión en tijera O-H-O, lo que confirma que las fibras lignocelulósicas son hidrofílicas y que la existencia de agua disminuyó con los pretratamientos (Karbowski *et al.*, 2011; Zhuang *et al.*, 2020) y que los pretratamientos aplicados redujeron la cantidad de grupos OH. El fuerte pico de 1316 cm⁻¹ corresponde a la flexión C-H que se encuentra en la hemicelulosa, lo que asegura que este polisacárido sufrió una disminución crítica en la composición después del pretratamiento. Finalmente, el pico a 1030 cm⁻¹ en un

estiramiento C-O muestra que parte de la celulosa sufrió un ligero proceso de degradación (Kubovský, Kačíková and Kačík, 2020).

VIII.6 Imágenes de microscopio electrónico de barrido de las muestras de bagazo de agave

En el análisis con microscopio electrónico de barrido se observó que la superficie sin tratar del bagazo de agave se asemeja a una colmena (figura 11.a). La muestra observada fue analizada con el detector de Dispersión de Energía (EDX) y se detectó la presencia de los siguientes elementos: Carbono (51.98%), oxígeno (45.13%), calcio (1.94%), potasio (0.25%), magnesio (0.31%), aluminio (0.17%), y fósforo (0.13%). En la observación de la morfología por SEM, fue posible detectar la presencia de “barras brillantes” en el bagazo de agave, de acuerdo a lo publicado por Delgadillo Ruíz *et al.*, en el bagazo de agave se pueden formar cristales de oxalato de calcio. Estos cristales de minerales se pueden formar en algunos tejidos vegetales debido a la biomineralización, la cual involucra materiales inorgánicos, a menudo cristalinos, que se forman en la pared externa de la célula, dentro de la pared celular o en las áreas de tejido circundantes inmediatas (Skinner and Jahren, 2007). Por lo cual las “barras brillantes” observadas en las figuras 11.a y 11.c podrían ser cristales de oxalato de calcio (Delgadillo Ruíz *et al.*, 2018).

En el pretratamiento ácido parece haber más filamentos en los bordes de las paredes de la fibra, aumentando la rugosidad de la superficie de la fibra, y la apariencia de colmena es menos definida (Figura 11.b). Este resultado es probablemente debido al efecto del H₂SO₄ sobre la estructura de la fibra (Cruz *et al.*, 2013). El análisis con EDX detectó la presencia de los siguientes elementos: Carbono (49.16%), oxígeno (41.61%), calcio (3.03%), magnesio (0.12%), aluminio (0.08%). Otro posible indicador de que los cristales presentes en el bagazo de agave podrían ser de oxalato de calcio es la ausencia de ellos en la micrografía del bagazo pretratado con ácido sulfúrico, ya que estos cristales son solubles sin efervescencia en ácido sulfúrico (Mukherjee, 2019).

El pretratamiento enzimático parece haber tenido poco efecto sobre las paredes de las fibras, aparentemente mantuvieron su forma original (Figura 11.c). El análisis con EDX detectó la presencia de los siguientes elementos: Carbono (43.20%), oxígeno (45.05%), calcio (3.10%), magnesio (0.01%), aluminio (0.20%). En la micrografía 11.c se pueden observar los cristales que podrían ser de oxalato de calcio, en este caso parecen no haber sido afectados por el pretratamiento enzimático.

Finalmente, el pretratamiento ácido-enzimático (Figura 11.d) parece haber tenido efecto en las paredes de la fibra. Después del pretratamiento ácido, la estructura de la pared celular más expuesta permite una mayor accesibilidad a las enzimas hidrolíticas, lo que facilita la hidrólisis de la biomasa lignocelulósica (Corrales *et al.*, 2012). El análisis con EDX detectó la presencia de los siguientes elementos: Carbono (43.07%), oxígeno (41.61%), calcio (1.70%), magnesio (0.12%), aluminio (0.11%). En este caso, no se pueden observar formaciones de oxalato de calcio, posiblemente porque este pretratamiento se utilizó ácido sulfúrico, el cual tiene la capacidad de disolver oxalato de calcio.

La composición elemental obtenidas por SEM-EDX de las muestras de bagazo de agave resulta bastante similar en todas las partículas/estructuras, independientemente del origen (crudo) o tratamiento químico o biológico.

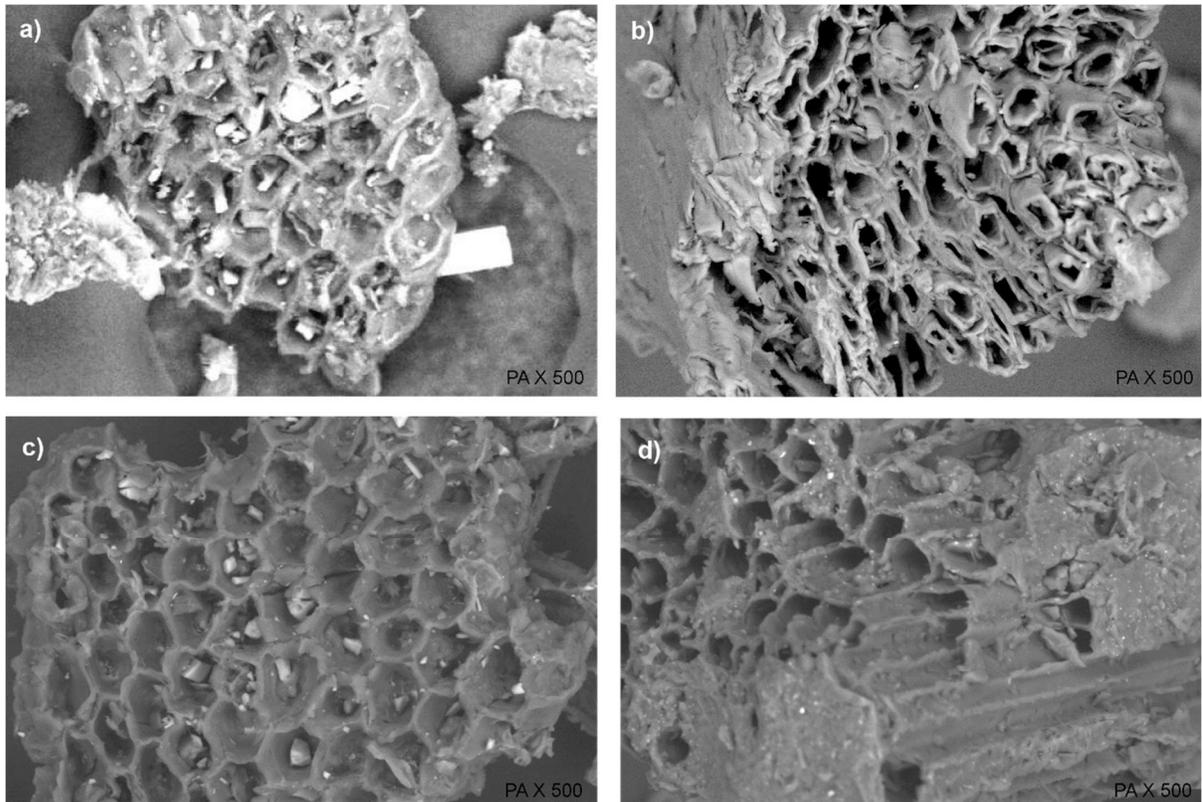


Figura 11. a) Micrografía SEM de bagazo sin tratar (C). b) Micrografía SEM de bagazo con pretratamiento ácido (A10-1.5). c) Micrografía SEM de bagazo con pretratamiento enzimático (E24-1.5). d) Micrografía SEM de bagazo de agave con pretratamiento ácido-enzimático (E6-1.5).

VIII.7 Resultados análisis termogravimétrico (TGA) de las muestras de bagazo de agave

En la figura 15, se puede observar el análisis termogravimétrico del bagazo de agave crudo, el cual indica el comportamiento de las muestras a una degradación térmica. Los termogramas TGA superpuestos de las muestras de bagazo de agave mostraron que el bagazo crudo tiene la susceptibilidad más significativa a la temperatura, degradándose al principio más rápido que los bagazos pretratados (ácido, enzimático y la secuencia ácido-enzimático). Después de 400 °C, el bagazo de agave crudo tuvo el mayor residuo carbonoso. La muestra de pretratamiento enzimático fue menos susceptible a la temperatura de 250 °C. Así mismo, esta fibra fue más resistente a la degradación térmica. Después de 400 °C, se registró un residuo carbonoso menor en la muestra con pretratamiento enzimático. Esto significa que la muestra se degrada

térmicamente más rápido que los otros materiales. La estabilidad térmica de los materiales compuestos depende de la matriz polimérica utilizada y de la fibra seleccionada para reforzarlo. Se puede aumentar la estabilidad térmica de un material mezclándolo con otro con una estabilidad más alta (Shahinur and Hasan, 2020). En este caso, el bagazo con pretratamiento enzimático demostró menor resistencia a la degradación térmica, por lo que podría disminuir la estabilidad a un material compuesto.

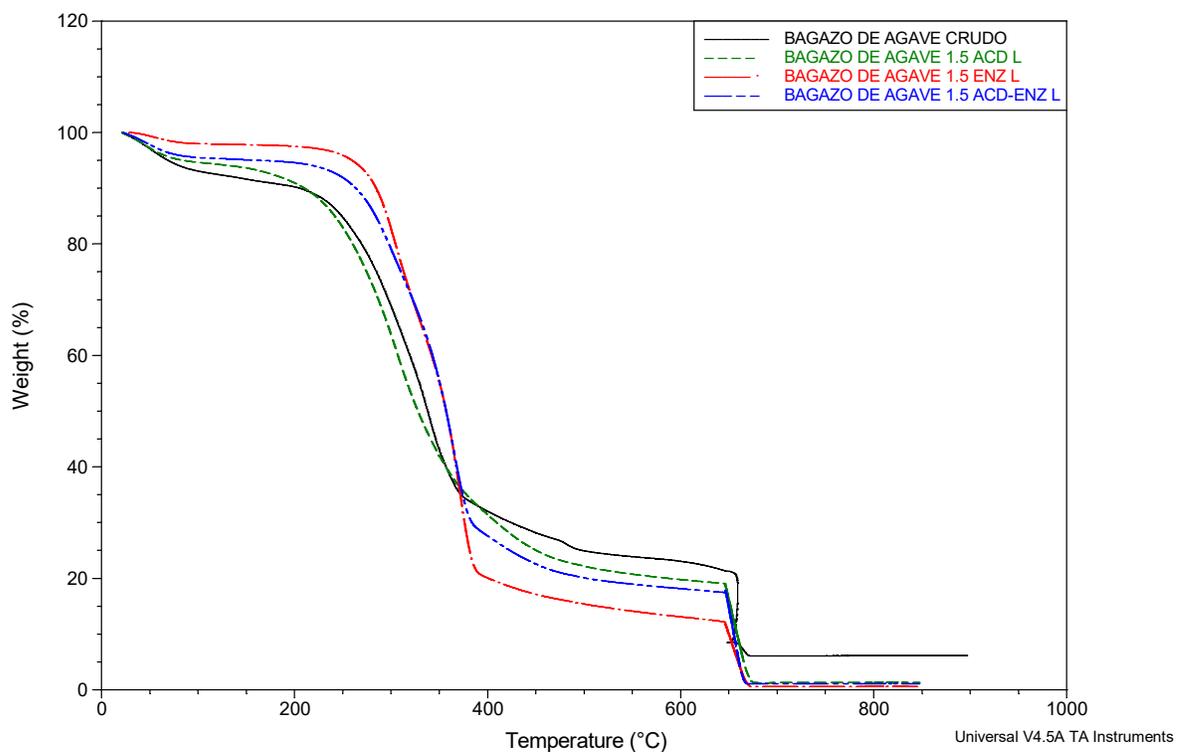


Figura 12. Análisis termogravimétrico del bagazo de agave crudo y pretratado.

En la figura 16, se encuentra la superposición de los termogramas TGA, la cual se realizó utilizando la derivada de la pérdida de peso en función de la temperatura. Se puede dividir en 3 fases considerando las 3 inflexiones que hace la gráfica. La primera inflexión (30 °C–270 °C) se puede atribuir a la volatilización del agua contenida en el bagazo. En la fase 2 de (270 °C–400 °C) se descompone la fibra del bagazo en su

totalidad. Finalmente, la carbonización del material fue la principal fuente de pérdida de masa en la fase 3 (400 °C–600 °C) (Ji *et al.*, 2021).

Se puede observar en el termograma que los pretratamientos del bagazo aceleran la degradación térmica del material, desplazando el pico central de degradación térmica a una temperatura más baja. El pretratamiento enzimático es el que acelera más el proceso de degradación térmica, seguido del pretratamiento ácido enzimático y el que tiene una menor aceleración es el pretratamiento ácido.

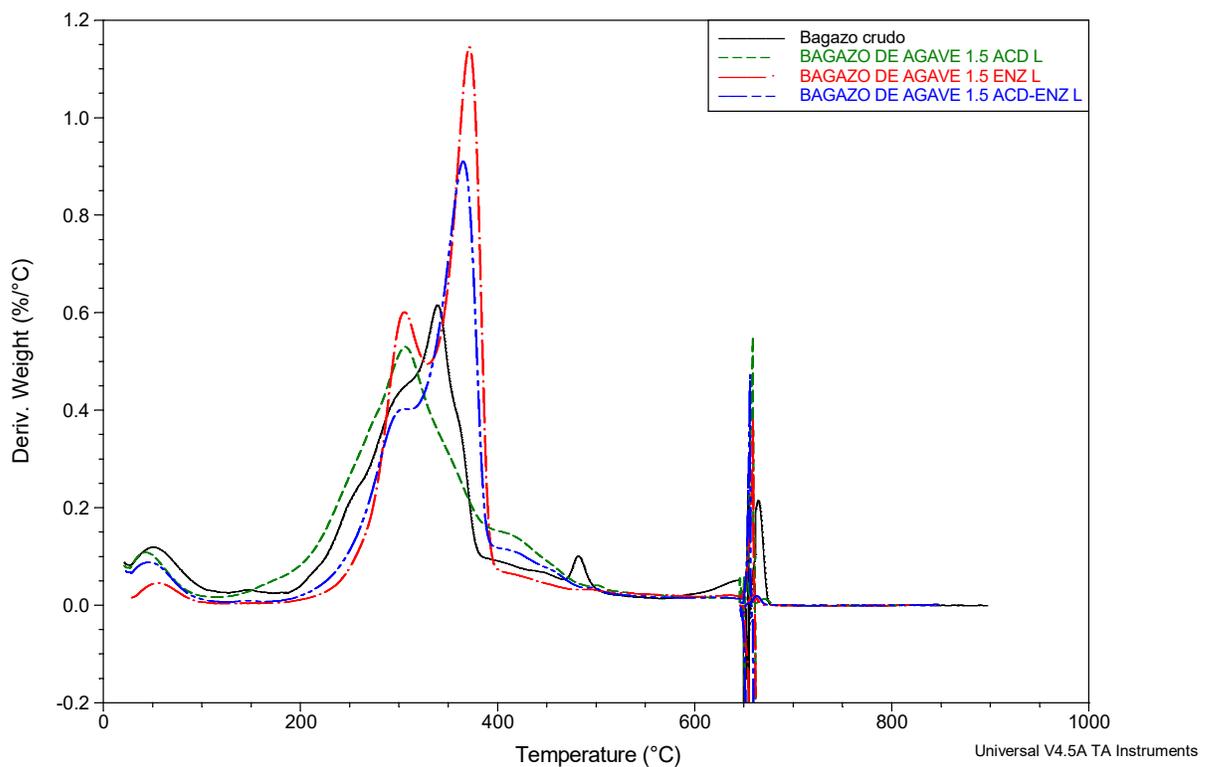


Figura 13. Superposición de los termogramas TGA del bagazo de agave crudo y pretratado.

A pesar de los resultados positivos en cuanto al aumento de la fracción de celulosa en la fibra con algunos de los pretratamientos, el bagazo pretratado no fue utilizado para la formulación de los biomateriales de los experimentos de la siguiente sección. Esto debido a que al mezclar el bagazo pretratado con las diferentes formulaciones con PLA y TPS se obtuvo una mezcla viscosa que no fue la adecuada para la producción de la película polimérica esperada. Es por eso que solamente se formularon biomateriales

con el bagazo de agave crudo. Es necesario realizar más estudios sobre el efecto de la fibra de bagazo de agave pretratada en la producción de biomateriales.

VIII.8 Carbono orgánico total de las muestras de bagazo de agave y biopolímeros

Se cuantificó la cantidad de carbono presente en las muestras de bagazo de agave y de los bioplásticos hechos a base de bagazo de agave y ácido poli láctico (PLA) y Almidón termoplástico (TPS). Se pueden observar los resultados de carbono orgánico total en la tabla 13.

Tabla 13. Porcentaje de carbono orgánico total en las muestras de bagazo de agave y bioplásticos.

Muestra	Carbono orgánico total (TOC)
Celulosa	51.94%
Bagazo crudo (BC)	58.94%
Bagazo pretratamiento ácido (BA)	45.59%
Bagazo pretratamiento enzimático (BE)	56.66%
Bagazo pretratamiento acido-enzimático (BAE)	51.12%
Polietileno (P1)	34.66%
Polímero de ácido poli láctico (P2)	68.51%
Almidón termoplástico (TPS)	43.84%
Mezcla 80%TPS, 20% BC (TPS Agave)	41.64%
Ácido poli láctico (PLA)	52.89%
Mezcla 70% TPS y PLA, 30% BC (DOE6)	42.20%
Mezcla 82% TPS y PLA, BC 18% (DOE7)	47.25%

El porcentaje de carbono orgánico total (TOC) del PLA obtenido fue similar al reportado por (Brdlík *et al.*, 2021) el cual fue de 50%. El porcentaje de TOC en el caso del TPS reportado por (Iovino *et al.*, 2008) fue del 49%, en este caso la diferencia puede deberse a que realizaron las mediciones de TOC con titulación de forma manual y en

este estudio se realizaron con un equipo especializado (Módulo De Sólidos SSM-5000A Para TOC-VC – Shimadzu).

VIII.9 Biodegradabilidad en suelo de las muestras de bagazo de agave y biopolímeros

En el experimento de biodegradabilidad se evaluó la cantidad de carbono emitido a través del tiempo. El experimento duró cuatro meses y medio, en los cuales se fue midiendo el acumulado de carbono emitido por las muestras. En las siguientes gráficas (Figura 17 y 18) podemos observar la medición inicial y el acumulado a la última medición.

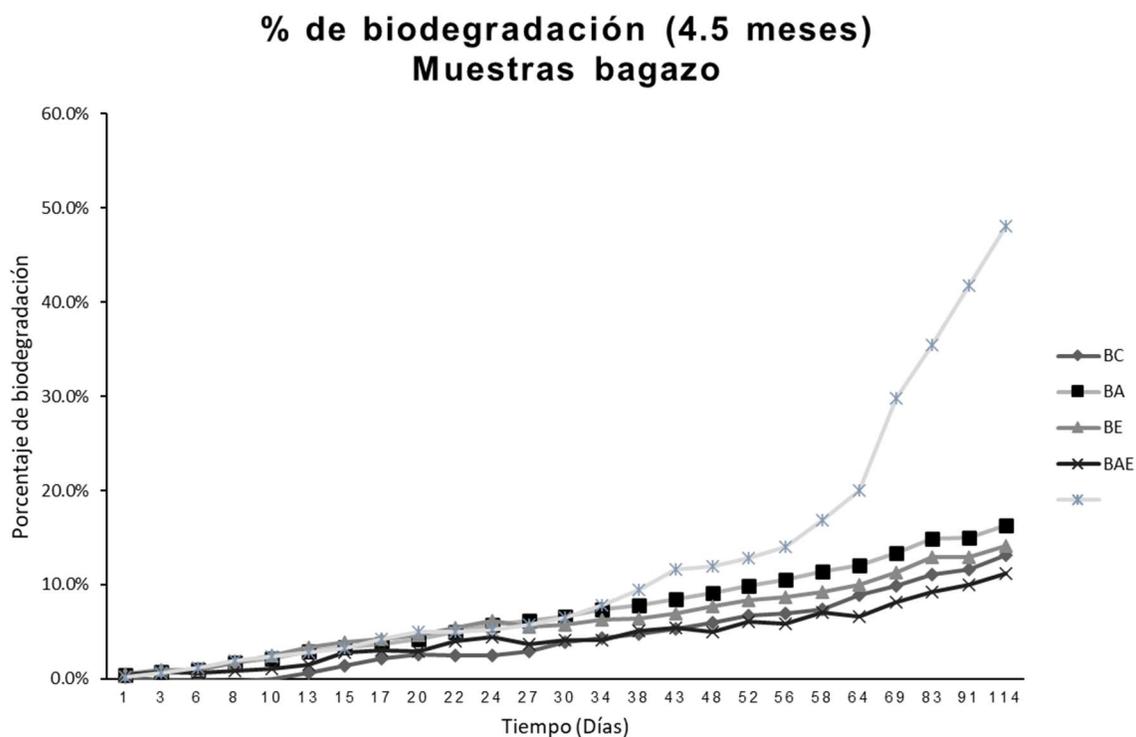


Figura 14. Miligramos de carbono emitidos en 4.5 meses por las muestras de bagazo de agave. ((Cel) celulosa, (BC) Bagazo crudo, (BA) Bagazo ácido, (BE) Bagazo enzimático, (BAE) Bagazo ácido-enzimático.

Se puede observar en la figura 17 que el bagazo pretratado con la secuencia ácido-enzimática tuvo un mayor porcentaje de biodegradación respecto al tiempo que los demás tipos de bagazo. De acuerdo con (Canilha *et al.*, 2011) la biomasa pretratada tiende a biodegradarse más rápido, ya que los pretratamientos afectan la estructura de la fibra lignocelulósica, haciéndola más vulnerable a que enzimas y hongos la puedan terminar de hidrolizar al entrar en contacto con ellos. En el caso del pretratamiento ácido-enzimático, pudimos observar en el análisis SEM en la figura 13 que su estructura fue modificada por los tratamientos y por lo tanto se encontraba más expuesta a factores del medio ambiente. En segundo lugar, tenemos al bagazo crudo, el cual obtuvo emisiones constantes de carbono medición a medición, pero demostró tener un proceso de biodegradación lento. Esto se debe a que el bagazo de agave es naturalmente recalcitrante debido a factores químicos, relacionados con la composición y contenido en lignina, hemicelulosas y grupos acetilo y su estructura, que se refieren principalmente al área superficial específica de la celulosa, la cristalinidad de la celulosa, el grado de polimerización, el tamaño y el volumen de los poros (Zoghلامي and Paës, 2019). Esta característica recalcitrante restringe severamente la accesibilidad que tienen los microorganismos y enzimas a la biomasa (Wang, Cai and Ma, 2020).

El bagazo pretratado de forma ácida tuvo un comportamiento similar al de la celulosa cristalina, la cual fue el control. En este caso se puede considerar que el pretratamiento ácido afectó de forma negativa el proceso de biodegradación. Este bagazo pretratado tuvo una emisión de carbono por debajo de la emisión de bagazo de agave crudo, este resultado se puede atribuir a los inhibidores como compuestos furánicos (furfural y 5-hidroximetilfurfural (HMF)) (Wang, Cai and Ma, 2020) formados durante la hidrólisis ácida y térmica por la degradación de los polisacáridos en la fibra. Aunque el bagazo pretratado fue lavado después de haber sido pretratado con ácido, es posible que quedasen cristales o trazas de estos compuestos, los cuales no pueden ser arrastrados en su totalidad por agua, tendría que haber sido utilizado un solvente con polaridad distinta para el arrastre de los compuestos furánicos inhibidores del crecimiento de microorganismos (Shinde *et al.*, 2018).

En el caso del pretratamiento enzimático, se obtuvo un comportamiento similar al control y por debajo del resultado del bagazo crudo. En el caso de los pretratamientos con enzimas, no se producen compuestos tóxicos o inhibidores (furfurales, hidroximetilfurfural o compuestos fenólicos). El comportamiento de este pretratamiento se puede atribuir a la unión improductiva de las enzimas a la lignina, estas actúan como una barrera física que ralentiza la degradación de la biomasa por acción enzimática o microbiana (Álvarez, Reyes-Sosa and Díez, 2016; Valdez-Guzmán *et al.*, 2019).

Esto indicó que el aumento de la concentración de ácido y el tiempo de pretratamiento condujo a la formación de mayores cantidades de ácido acético y furfural los cuales son agentes inhibidores de enzimas y microorganismos, por lo que podrían afectar la futura biodegradación (Sritrakul, Nitisinprasert and Keawsompong, 2017).

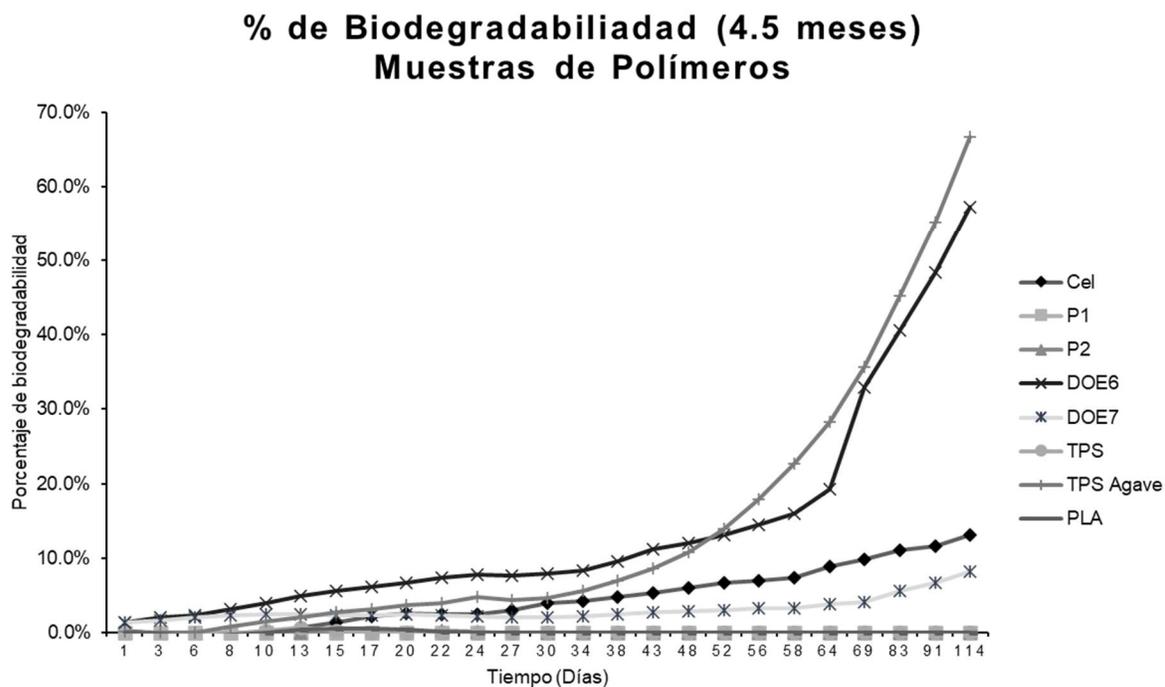


Figura 15. Miligramos de carbono emitidos en 4.5 meses por las muestras de polímeros. ((Cel) Celulosa, (P1) Polietileno, (P2) Polímero de ácido poli láctico, (DOE6) Mezcla 70% TPS y PLA, 30% BC, (DOE7) Mezcla 82% TPS y PLA, BC 18%, (TPS) Almidón termoplástico, (TPS Agave) Almidón termoplástico y bagazo de agave, (PLA) Ácido poli láctico.

En la figura 18 podemos observar que las muestras de TPS-Agave y DOE6 fueron las que tuvieron un mayor porcentaje de biodegradabilidad, llegando a un 67% y 57% respectivamente. Un resultado similar fue reportado por Campos *et al.* con la biodegradación de un biopolímero a base de TPS (80%) y sisal (20%), con el cual obtuvieron un porcentaje de biodegradación en composta del 60% (de Campos *et al.*, 2013).

En tercer lugar, se encuentra la celulosa cristalina, la cual fue la muestra control positivo. En dicha muestra se logró un porcentaje de biodegradación del 17%, el cual es bajo respecto a los valores reportados por otros autores. Narayan *et al.* reportó un 86% de biodegradación a los 45 días y un 97% de biodegradación a los 180 días. Esto es debido posiblemente a el pH en la composta, la temperatura y la humedad presentes en la composta utilizada (Narayan, Madhu and Diksha, 2019). Se hizo el experimento del control positivo 2 veces por 4 meses y se obtuvieron resultados similares.

La muestra DOE7 logró un 8% de biodegradabilidad en estas condiciones. Esta matriz polimérica contenía una mezcla de PLA, TPS, un agente de acoplamiento y bagazo de agave. Es posible que la adición del agente de acoplamiento en la matriz polimérica redujera la cantidad de carbono dióxido producido, probablemente debido a un aumento en la resistencia, lo cual disminuye la penetración del agua en la matriz. Esto posiblemente ralentizó la reacción hidrolítica abiótica de las cadenas poliméricas (Martinez Villadiego *et al.*, 2022). También es posible que la temperatura a la que se mantuvieron las muestras (38°C) no haya sido suficiente para el proceso de compostaje, ya que en el estudio realizado por Kalita *et al.* en el que se obtuvo un 90% de biodegradación en biopolímeros a base de PLA con biomasa lignocelulósica colocados en composta a 58°C por 60 días (Kalita *et al.*, 2021).

Las muestras de polietileno (P1) y polímero de ácido poli láctico (P2) fueron muestras tomadas de las bolsas de plástico que se encuentran en el mercado actualmente. En ambos casos se obtuvo un porcentaje de biodegradabilidad de 0%. En el caso del polietileno, uno de los principales desafíos de su biodegradación es que debe precederse a un cambio de estructura física de polímero a carbono alifático. Este

plástico tiene una columna vertebral C–C, lo que hace que el polímero plástico sea resistente a la biodegradación y que sea necesaria la aplicación de pretratamientos como someterlos a altas temperaturas o exponerlo a rayos UV para poder degradarlo (Jeon *et al.*, 2021). En el caso del polímero de ácido poli láctico contiene aditivos que pudieron afectar la biodegradabilidad de material en suelo, por otro lado, se puede atribuir este bajo porcentaje a la temperatura aplicada a la composta. Otros autores reportaron temperaturas para la biodegradación de polímeros por arriba de los 50°C (Kalita *et al.*, 2021).

Las muestras de TPS y PLA son polímeros biodegradables. En las pruebas de biodegradabilidad aplicadas en ambos casos se obtuvo un porcentaje de 0. Este resultado se puede atribuir a que ambos materiales se encontraban en forma de pellets, lo cual disminuye la superficie de contacto, además de que el material se encuentra en forma más densa que si se hubiera utilizado en forma de lámina (Lucas *et al.*, 2008). Otro factor crítico en la capacidad de biodegradación del PLA y TPS es la temperatura, se ha comprobado que la actividad microbiana aumenta con la temperatura. Sin embargo, a temperaturas demasiado altas, la actividad de los microorganismos puede disminuir drásticamente o detenerse por completo (Klein and Sommerfeld, 2014). Al retirar las muestras de la composta se pudo observar que la superficie de los polímeros no había tenido cambios de rugosidad de la superficie, formación de agujeros y grietas, cambios de color, desarrollo de microorganismos sobre la superficie etc. En general, con este método los pellets no sufrieron deterioración en el tiempo que estuvieron en la composta.



Ilustración 10. Pellets de PLA después de estar por 4.5 meses en composta.

En la tabla 14 se puede observar el carbono emitido por las muestras y su porcentaje de biodegradabilidad.

Tabla 14. Porcentaje de biodegradabilidad por muestra.

Muestra	Peso de la muestra g	Carbono orgánico total (TOC)	Acumulado de carbono emitido (mg)	Porcentaje de biodegradabilidad
Celulosa	0.15	40.00%	10.2	17%
Bagazo crudo	0.15	58.94%	14.4	16%
Bagazo BA	0.15	45.59%	9.7	14%
Bagazo BE	0.15	56.66%	9.6	11%
Bagazo BA-E	0.15	51.12%	36.9	47%
Polietileno	0.15	13.91%	0	0%
Polímero PLA	0.15	68.52%	0	0%
TPS	0.15	43.84%	0	0%
TPS Agave	0.15	41.64%	41.61	67%
PLA	0.15	52.89%	0	0%
DOE6	0.15	42.20%	36.22	57%
DOE7	0.15	47.25%	5.797	8%

(P1) Polietileno, (P2) Polímero de ácido poli láctico, (DOE6) Mezcla 70% TPS y PLA, 30% BC, (DOE7) Mezcla 82% TPS y PLA, BC 18%, (TPS) Almidón termoplástico, (TPS Agave) Almidón termoplástico y bagazo de agave, (PLA) Ácido poli láctico.

VIII.10 Biodegradabilidad en agua de biopolímeros

En el experimento de biodegradabilidad en agua se evaluó la demanda química de oxígeno (DQO) consumido por los biopolímeros. El experimento duró tres meses, al final de los cuales se midió el oxígeno total consumido. En la tabla 15 podemos observar el acumulado a la última medición y el porcentaje de biodegradabilidad. No se realizó esta prueba para los bagazos de agave pretratados ya que no son solubles en agua.

Tabla 15. Porcentaje de biodegradabilidad en agua.

Muestra	Peso de muestra mg	Carbono orgánico total	mG O2 consumido/L	Porcentaje de biodegradabilidad
Glucosa	1.8	40.00%	3.11	100%
TPS	1.8	43.84%	1.72	80.81%
TPS Agave	1.8	41.64%	1.04	31.99%
PLA	1.8	52.89%	1.32	61.04%
DOE6	1.8	42.20%	1.12	41.57%
DOE7	1.8	47.25%	1.28	58.57%

(P1) Polietileno, (P2) Polímero de ácido poli láctico, (DOE6) Mezcla 70% TPS y PLA, 30% BC, (DOE7) Mezcla 82% TPS y PLA, BC 18%, (TPS) Almidón termoplástico, (TPS Agave) Almidón termoplástico y bagazo de agave, (PLA) Ácido poli láctico.

En este experimento se pudieron observar porcentajes de biodegradabilidad más altos que en las pruebas en composta. Esto se debe a que los biopolímeros como el PLA y el TPS son solubles en agua, además de que se utilizó el material en láminas y pequeñas fracciones, ya no en pellets, aumentando la superficie de contacto del material con el medio se logró un mejor porcentaje de biodegradabilidad (Lucas *et al.*, 2008).

El biopolímero con el mayor porcentaje de biodegradación fue el TPS, seguido por PLA. La degradación de estos biopolímeros está determinada principalmente por la reactividad del polímero con agua y catalizadores (Klein and Sommerfeld, 2014), por lo que al encontrarse en un medio acuoso lograron mayores porcentajes de biodegradación que en composta. En el caso del PLA, su hidrólisis es una reacción auto catalizada ya que los grupos de ácido carboxílico de PLA y sus oligómeros pueden catalizar la ruptura de enlaces éster. La escisión de la cadena durante la hidrólisis libera grupos ácidos H⁺. El ácido se retiene en el material o en el medio de reacción, lo que provoca una disminución del pH y una aceleración de la tasa de hidrólisis (Klein and Sommerfeld, 2014). En el caso del TPS, los grupos hidroxilo en el almidón forman un enlace de hidrógeno con el agua, por lo que el contacto con agua favorece su rápida degradación (Bulatović *et al.*, 2021).

Las mezclas TPS-Agave, DOE6 y DOE7 con bagazo de agave obtuvieron menores porcentajes de biodegradabilidad, esto debido posiblemente a la cantidad de bagazo en la mezcla con fibras de bagazo, ya que estos biomateriales contenían mayor cantidad de biomasa, la cual no es soluble y por lo tanto tardan más de tener un proceso de biodegradación que los biopolímeros en agua. Estos resultados son comparables con los obtenidos por Campos *et al.*, en los que denota que la adición de fibras en materiales compuestos provocó una disminución en su degradación. El compuesto con un 5 % de fibras tuvo una evolución de CO₂ mayor en comparación con el compuesto con un 10 % de contenido de fibras (de Campos *et al.*, 2013).

IX. Conclusión

El pretratamiento ácido es un método eficiente para el fraccionamiento de biomasa lignocelulósica del bagazo de agave, produciendo un sólido rico en celulosa el cual puede dar estructura y fuerza para la formulación de biomateriales compuestos (bioplásticos). El pretratamiento enzimático y el ácido-enzimático en secuencia demostraron no aumentar el porcentaje de celulosa de forma tan eficiente como el pretratamiento ácido. La fracción más alta de celulosa obtenida fue con hidrólisis ácida de H₂SO₄ al 1.5% por 10 minutos en autoclave a 121°C. Además de la fracción de celulosa, se pudo confirmar la reducción de grupos hidroxilo presentes con los pretratamientos, lo cual mejora la adhesión del biopolímero con la fibra. Se confirmó en el análisis termogravimétrico que los pretratamientos del bagazo reducen su estabilidad termal respecto al bagazo sin pretratar, pero el pretratamiento ácido es el que se ve menos afectado.

Se comprobó que los biopolímeros producidos con bagazo de agave y mezclas en diferentes cantidades de PLA y TPS son biodegradables, especialmente en ambientes acuosos. Los biopolímeros con mejores resultados de biodegradabilidad fue el TPS-agave en composta con un 67% y el DOE7 en ambiente acuoso con un 58.57%.

X. Perspectivas

- En los pretratamientos enzimáticos fue utilizado el coctel enzimático HTec2 de Novozymes, el cual contiene celulasas. Por lo que la aplicación de un coctel enzimático libre de celulasas podría ser evaluado para incrementar la fracción de celulosa sin hidrolizarla.
- La aplicación de un pretratamiento alcalino al bagazo podría ser considerado en otro experimento, ya que se ha informado que es efectivo para la hidrólisis de hemicelulosa y remoción de lignina. Podría ser un pretratamiento útil para la producción de biomateriales.
- En la aplicación del pretratamiento enzimático se podría considerar agregar tensioactivos o proteína no enzimática, ya que se ha informado que el uso de tensioactivos o proteína no enzimática (BSA) para reducir o bloquear la adsorción física de las enzimas hidrolíticas a la lignina mejora significativamente la eficiencia de la sacarificación de materiales lignocelulósicos. Y por ende mejoraría su capacidad de biodegradación, ya que no se formaría la barrera formada por lignina y enzimas.
- En futuros estudios de biodegradabilidad habría que realizar secuenciaciones de los microorganismos presentes en la composta para conocer la compatibilidad de estos con el sustrato a biodegradar.

XI. Bibliografía

Agbor, V. B. *et al.* (2011) 'Biomass pretreatment: Fundamentals toward application', *Biotechnology Advances*, 29(6), pp. 675–685. doi: 10.1016/j.biotechadv.2011.05.005.

Aguirrezabal Unamunzaga, I. (2019) 'Plástico en México', *Icex*, p. 12. Available at: <https://www.icex.es/icex/es/navegacion-principal/todos-nuestros-servicios/informacion-de-mercados/paises/navegacion-principal/el-mercado/estudios-informes/DOC2019826983.html?idPais=MX>.

Álvarez, C., Reyes-Sosa, F. M. and Díez, B. (2016) 'Enzymatic hydrolysis of biomass from wood', *Microbial Biotechnology*, 9(2), pp. 149–156. doi: 10.1111/1751-7915.12346.

Amin, F. R. *et al.* (2017) 'Pretreatment methods of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion', *AMB Express*, 7(1). doi: 10.1186/s13568-017-0375-4.

Banik, N., Dey, V. and Sastry, G. R. K. (2017) 'An Overview of Lignin & Hemicellulose Effect Upon Biodegradable Bamboo Fiber Composites Due to Moisture', *Materials Today: Proceedings*, 4(2), pp. 3222–3232. doi: 10.1016/j.matpr.2017.02.208.

Barton, F. E. (1988) 'Chemistry of lignocellulose: Methods of analysis and consequences of structure', *Animal Feed Science and Technology*, 21(2–4), pp. 279–286. doi: 10.1016/0377-8401(88)90107-1.

Bledzki, A. K. *et al.* (2010) 'Polypropylene composites with enzyme modified abaca fibre', *Composites Science and Technology*, 70(5), pp. 854–860. doi: 10.1016/j.compscitech.2010.02.003.

Brdlík, P. *et al.* (2021) 'Biodegradation of poly(Lactic acid) biocomposites under controlled composting conditions and freshwater biotope', *Polymers*, 13(4), pp. 1–15. doi: 10.3390/polym13040594.

Bulatović, V. O. *et al.* (2021) 'Biodegradable Polymer Blends Based on Thermoplastic Starch', *Journal of Polymers and the Environment*, 29(2), pp. 492–508. doi: 10.1007/s10924-020-01874-w.

de Campos, A. *et al.* (2013) 'TPS/PCL Composite Reinforced with Treated Sisal Fibers: Property, Biodegradation and Water-Absorption', *Journal of Polymers and the Environment*, 21(1), pp. 1–7. doi: 10.1007/s10924-012-0512-8.

Canilha, L. *et al.* (2011) 'A study on the pretreatment of a sugarcane bagasse sample with dilute sulfuric acid', *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 38(9), pp. 1467–1475. doi: 10.1007/s10295-010-0931-2.

De Carvalho, A. J. F., Curvelo, A. A. S. and Agnelli, J. A. M. (2001) 'A first insight on composites of thermoplastic starch and kaolin', *Carbohydrate Polymers*, 45(2), pp. 189–194. doi: 10.1016/S0144-8617(00)00315-5.

Casalini, T. *et al.* (2019) 'A Perspective on Polylactic Acid-Based Polymers Use for Nanoparticles Synthesis and Applications', *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7(October), pp. 1–16. doi: 10.3389/fbioe.2019.00259.

Consejo-Regulador-del-Tequila (2019) *DECLARATORIA GENERAL DE PROTECCION A LA DENOMINACIÓN DE ORIGEN 'TEQUILA'*, *Paper Knowledge . Toward a Media History of Documents*. Available at: <https://www.crt.org.mx/index.php/es/pages-3/declaratoria>.

Consejo-Regulador-del-Tequila (2022) *BOLETÍN INFORMATIVO 2022*.

Corrales, R. C. N. R. *et al.* (2012) 'Structural evaluation of sugar cane bagasse steam pretreated in the presence of CO₂ and SO₂', *Biotechnology for Biofuels*, 5, pp. 1–8. doi: 10.1186/1754-6834-5-36.

Cromtek (2020) *Analizadores de carbono orgánico total Sievers | SUEZ*. Available at:

<https://www.cromtek.cl/carbono-organico-total/> (Accessed: 3 June 2022).

Cruz, G. *et al.* (2013) 'Thermal and Morphological Evaluation of Chemically Pretreated Sugarcane Bagasse', *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 78(June), pp. 1324–1329. Available at: <http://waset.org/publications/15832>.

Datta, R. *et al.* (2017) 'Enzymatic degradation of lignin in soil: A review', *Sustainability (Switzerland)*, 9(7). doi: 10.3390/su9071163.

Dehouche, N. *et al.* (2020) 'Effects of various surface treatments on Aloe Vera fibers used as reinforcement in poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) (PHBHHx) biocomposites', *Polymer Degradation and Stability*, 175. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2020.109131.

Delgadillo Ruíz, L. *et al.* (2018) 'Evaluación del perfil de nutrientes de bagazo de agave como alternativa de alimento para rumiantes', *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (11), pp. 2099–2103. doi: 10.29312/remexca.v0i11.778.

Diani, J. and Gall, K. (2006) 'Finite Strain 3D Thermoviscoelastic Constitutive Model', *Society*, pp. 1–10. doi: 10.1002/pen.

Fitch-Vargas, P. R. *et al.* (2019) 'Mechanical, physical and microstructural properties of acetylated starch-based biocomposites reinforced with acetylated sugarcane fiber', *Carbohydrate Polymers*, 219(February), pp. 378–386. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.05.043.

Folino, A. *et al.* (2020) 'Biodegradación de bioplásticos desechados en entornos naturales e industriales', *Sustainability (Switzerland)*, 12(15), pp. 1–37.

Gad, S. E. and Services, G. C. (2014) 'Polymer Classes', 3, pp. 1045–1050. doi: 10.1016/B978-0-12-386454-3.00912-X.

Ganster, J. and Fink, H. P. (2006) 'Novel cellulose fibre reinforced thermoplastic materials', *Cellulose*, 13(3), pp. 271–280. doi: 10.1007/s10570-005-9045-9.

Gassan, J. and Bledzki, A. K. (1999) 'Effect of cyclic moisture absorption desorption on the mechanical properties of silanized jute-epoxy composites', *Polymer Composites*, 20(4), pp. 604–611. doi: 10.1002/pc.10383.

George, J., Sreekala, M. S. and Thomas, S. (2001) 'A review on interface modification and characterization of natural fiber reinforced plastic composites', *Polymer Engineering and Science*, 41(9), pp. 1471–1485. doi: 10.1002/pen.10846.

Geyer, R., Jambeck, J. R. and Law, K. L. (2017) 'Production, use, and fate of all plastics ever made', *Science Advances*, 3(7), pp. 3–8. doi: 10.1126/sciadv.1700782.

Goswami, P. and O'Haire, T. (2016) *Developments in the use of green (biodegradable), recycled and biopolymer materials in technical nonwovens*, *Advances in Technical Nonwovens*. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/B978-0-08-100575-0.00003-6.

Grima, S. *et al.* (2000) 'Aerobic biodegradation of polymers in solid-state conditions: A review of environmental and physicochemical parameter settings in laboratory simulations', *Journal of Polymers and the Environment*, 8(4), pp. 183–195. doi: 10.1023/A:1015297727244.

Hames, B. R. *et al.* (2003) 'Rapid Biomass Analysis', *Biotechnology for Fuels and Chemicals*, 105, pp. 5–16. doi: 10.1007/978-1-4612-0057-4_1.

Han, L. *et al.* (2012) 'Alkali pretreated of wheat straw and its enzymatic hydrolysis', *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(1), pp. 53–61. doi: 10.1590/S1517-83822012000100006.

Hao, L. C. *et al.* (2018) *Natural fiber reinforced vinyl polymer composites*, *Natural Fibre Reinforced Vinyl Ester and Vinyl Polymer Composites*. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/b978-

0-08-102160-6.00002-0.

Hassan, M. E., Bai, J. and Dou, D. Q. (2019) 'Biopolymers; Definition, classification and applications', *Egyptian Journal of Chemistry*, 62(9), pp. 1725–1737. doi: 10.21608/EJCHEM.2019.6967.1580.

Hosseini Koupaie, E. *et al.* (2019) 'Enzymatic pretreatment of lignocellulosic biomass for enhanced biomethane production-A review', *Journal of Environmental Management*, 233(May), pp. 774–784. doi: 10.1016/j.jenvman.2018.09.106.

Iovino, R. *et al.* (2008) 'Biodegradation of poly(lactic acid)/starch/coir biocomposites under controlled composting conditions', *Polymer Degradation and Stability*, 93(1), pp. 147–157. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2007.10.011.

Jagannathan, P., Muthukumar, C. and Tamilarasan, K. (2017) 'A sequential pretreatment of lignocelluloses in bamboo biomass to fermentable sugars by acid/enzymatic hydrolysis', *3 Biotech*, 7(4), pp. 1–9. doi: 10.1007/s13205-017-0892-5.

Jariwala, H. and Jain, P. (2019) 'A review on mechanical behavior of natural fiber reinforced polymer composites and its applications', *Journal of Reinforced Plastics and Composites*, 38(10), pp. 441–453. doi: 10.1177/0731684419828524.

Jeon, J. M. *et al.* (2021) 'Biodegradation of polyethylene and polypropylene by *Lysinibacillus* species JJY0216 isolated from soil grove', *Polymer Degradation and Stability*, 191, p. 109662. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2021.109662.

Jeong, T. S. *et al.* (2010) 'Optimizing dilute-acid pretreatment of rapeseed straw for extraction of hemicellulose', *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 161(1–8), pp. 22–33. doi: 10.1007/s12010-009-8898-z.

Ji, M. *et al.* (2021) 'Enhanced mechanical properties, water resistance, thermal stability, and biodegradation of the starch-sisal fibre composites with various fillers', *Materials*

and Design, 198, p. 109373. doi: 10.1016/j.matdes.2020.109373.

Joseph, S. *et al.* (2002) 'A comparison of the mechanical properties of phenol formaldehyde composites reinforced with banana fibres and glass fibres', *Composites Science and Technology*, 62(14), pp. 1857–1868. doi: 10.1016/S0266-3538(02)00098-2.

Kabir, E. *et al.* (2020) 'Prospects of biopolymer technology as an alternative option for non-degradable plastics and sustainable management of plastic wastes', *Journal of Cleaner Production*, 258, p. 120536. doi: 10.1016/j.jclepro.2020.120536.

Kalita, N. K. *et al.* (2021) 'Biodegradation and characterization study of compostable PLA bioplastic containing algae biomass as potential degradation accelerator', *Environmental Challenges*, 3(February), p. 100067. doi: 10.1016/j.envc.2021.100067.

Karbowiak, T. *et al.* (2011) 'Investigation of water transfer across thin layer biopolymer films by infrared spectroscopy', *Journal of Membrane Science*, 370(1–2), pp. 82–90. doi: 10.1016/j.memsci.2010.12.037.

Karthi, N. *et al.* (2019) 'An overview: Natural fiber reinforced hybrid composites, chemical treatments and application areas', *Materials Today: Proceedings*, 27(January), pp. 2828–2834. doi: 10.1016/j.matpr.2020.01.011.

Kestur G., S. *et al.* (2013) 'Characterization of blue agave bagasse fibers of Mexico', *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 45, pp. 153–161. doi: 10.1016/j.compositesa.2012.09.001.

Klein, F. and Sommerfeld, A. (2014) 'Technical applications', *The Theory of the Top. Volume IV*, pp. 761–936. doi: 10.1007/978-0-8176-4829-9_1.

Klemm, D. *et al.* (2005) 'Cellulose: Fascinating biopolymer and sustainable raw material', *Angewandte Chemie - International Edition*, 44(22), pp. 3358–3393. doi:

10.1002/anie.200460587.

Konczewicz, W. and Kozłowski, R. M. (2012) *Enzymatic treatment of natural fibres, Handbook of Natural Fibres*. Woodhead Publishing Limited. doi: 10.1533/9780857095510.1.168.

Ku, H. *et al.* (2011) 'A review on the tensile properties of natural fiber reinforced polymer composites', *Composites Part B: Engineering*, 42(4), pp. 856–873. doi: 10.1016/j.compositesb.2011.01.010.

Kubovský, I., Kačíková, D. and Kačík, F. (2020) 'Structural changes of oak wood main components caused by thermal modification', *Polymers*, 12(2). doi: 10.3390/polym12020485.

Kucharska, K. *et al.* (2018) 'Pretreatment of lignocellulosic materials as substrates for fermentation processes', *Molecules*, 23(11), pp. 1–32. doi: 10.3390/molecules23112937.

Li, X. *et al.* (2014) 'Cellulose fibers from cellulose/1-ethyl-3-methylimidazolium acetate solution by wet spinning with increasing spinning speeds', *Journal of Applied Polymer Science*, 131(9), pp. 1–9. doi: 10.1002/app.40225.

Liu, Q., Luo, L. and Zheng, L. (2018) 'Lignins: Biosynthesis and biological functions in plants', *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2). doi: 10.3390/ijms19020335.

López-Arenas, T. *et al.* (2010) *Factors affecting the acid pretreatment of lignocellulosic biomass: Batch and continuous process, Computer Aided Chemical Engineering*. Elsevier B.V. doi: 10.1016/S1570-7946(10)28164-6.

Lorenci Woiciechowski, A. *et al.* (2020) 'Lignocellulosic biomass: Acid and alkaline pretreatments and their effects on biomass recalcitrance – Conventional processing and recent advances', *Bioresource Technology*, 304(October 2019), p. 122848. doi:

10.1016/j.biortech.2020.122848.

Lucas, N. *et al.* (2008) 'Polymer biodegradation: Mechanisms and estimation techniques - A review', *Chemosphere*, 73(4), pp. 429–442. doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.06.064.

Madhu, P. *et al.* (2020) 'A new study on effect of various chemical treatments on Agave Americana fiber for composite reinforcement: Physico-chemical, thermal, mechanical and morphological properties', *Polymer Testing*, 85(January), p. 106437. doi: 10.1016/j.polymertesting.2020.106437.

Martinez Villadiego, K. *et al.* (2022) 'Thermoplastic Starch (TPS)/Polylactic Acid (PLA) Blending Methodologies: A Review', *Journal of Polymers and the Environment*, 30(1), pp. 75–91. doi: 10.1007/s10924-021-02207-1.

McKeen, L. W. (2012) 'Environmentally Friendly Polymers', *Permeability Properties of Plastics and Elastomers*, pp. 287–304. doi: 10.1016/b978-1-4377-3469-0.10013-x.

Meena, A. L. *et al.* (2021) 'Composting: Phases and Factors Responsible for Efficient and Improved Composting', *Agriculture & Food*, 3(1), pp. 85–90. doi: 10.13140/RG.2.2.13546.95689.

Merkel, K. *et al.* (2014) 'Processing and characterization of reinforced polyethylene composites made with lignocellulosic fibres isolated from waste plant biomass such as hemp', *Composites Part B: Engineering*, 67, pp. 138–144. doi: 10.1016/j.compositesb.2014.06.007.

Mohammed, L. *et al.* (2015) 'A Review on Natural Fiber Reinforced Polymer Composite and Its Applications', *International Journal of Polymer Science*, 2015. doi: 10.1155/2015/243947.

Mohanty, A. K., Drzal, L. T. and Misra, M. (2002) 'Engineered natural fiber reinforced

polypropylene composites: influence of surface modifications', *J. Adhesion Sci. Technol.*, 16(8), pp. 999–1015.

Mohiuddin, M., Kumar, B. and Haque, S. (2017) *Biopolymer Composites in Photovoltaics and Photodetectors, Biopolymer Composites in Electronics*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-809261-3.00017-6.

Moriana, R. *et al.* (2014) 'Correlation of chemical, structural and thermal properties of natural fibres for their sustainable exploitation', *Carbohydrate Polymers*, 112, pp. 422–431. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.06.009.

Mortier, N., Velghe, F. and Verstichel, S. (2016) *Organic Recycling of Agricultural Waste Today: Composting and Anaerobic Digestion, Biotransformation of Agricultural Waste and By-Products: The Food, Feed, Fibre, Fuel (4F) Economy*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-803622-8.00004-5.

Mosier, N. *et al.* (2005) 'Features of promising technologies for pretreatment of lignocellulosic biomass', *Bioresource Technology*, 96(6), pp. 673–686. doi: 10.1016/j.biortech.2004.06.025.

Mukherjee, P. K. (2019) *Morphological and Microscopical Evaluations, Quality Control and Evaluation of Herbal Drugs*. doi: 10.1016/b978-0-12-813374-3.00005-3.

Nafchi, A. M. *et al.* (2013) 'Thermoplastic starches: Properties, challenges, and prospects', *Starch/Staerke*, 65(1–2), pp. 61–72. doi: 10.1002/star.201200201.

Naik, S. *et al.* (2010) 'Characterization of Canadian biomass for alternative renewable biofuel', *Renewable Energy*, 35(8), pp. 1624–1631. doi: 10.1016/j.renene.2009.08.033.

Naranjo, C. D. D. *et al.* (2016) 'Aislamiento y caracterización de celulosas obtenidas de fibras de Agave salmiana aplicando dos métodos de extracción ácido-alcali * Isolation and characterization of cellulose obtained from Agave salmiana fibers using two acid-

alkali extraction methods Re', *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 7(1), pp. 31–43.

Narayan, C., Madhu, G. and Diksha, B. (2019) 'Evaluation of Biodegradability Characteristics of Cellulose-based Film as per IS / ISO 14855-1', *Applied Packaging reserarch*, 11(3), 2., pp. 12–23.

Novozymes (2010) 'FUEL ETHANOL APPLICATION SHEET Cellic® CTec2 and HTec2-Enzymes for hydrolysis of lignocellulosic materials', pp. 1–9. Available at: <http://www.shinshu-u.ac.jp/faculty/engineering/chair/chem010/manual/Ctec2.pdf>www.bioenergy.novozymes.com.

Núñez, H. M., Rodríguez, L. F. and Khanna, M. (2011) 'Agave for tequila and biofuels: An economic assessment and potential opportunities', *GCB Bioenergy*, 3(1), pp. 43–57. doi: 10.1111/j.1757-1707.2010.01084.x.

Oh, S. Y. *et al.* (2005) 'FTIR analysis of cellulose treated with sodium hydroxide and carbon dioxide', *Carbohydrate Research*, 340(3), pp. 417–428. doi: 10.1016/j.carres.2004.11.027.

Ojeda, T. F. M. *et al.* (2009) 'Abiotic and biotic degradation of oxo-biodegradable polyethylenes', *Polymer Degradation and Stability*, 94(6), pp. 965–970. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2009.03.011.

Oksman, K., Skrifvars, M. and Selin, J. F. (2003) 'Natural fibres as reinforcement in polylactic acid (PLA) composites', *Composites Science and Technology*, 63(9), pp. 1317–1324. doi: 10.1016/S0266-3538(03)00103-9.

Oudiani, A. El *et al.* (2011) 'Crystal transition from cellulose I to cellulose II in NaOH treated Agave americana L. fibre', *Carbohydrate Polymers*, 86(3), pp. 1221–1229. doi: 10.1016/j.carbpol.2011.06.037.

Parker, L. (2021) 'The world ' s plastic pollution crisis explained', *National Geographic*, pp. 1–7. Available at: <https://www.nationalgeographic.com/environment/article/plastic-pollution>.

Pérez-Pacheco, E. *et al.* (2016) 'Thermoplastic Starch (TPS)-Cellulosic Fibers Composites: Mechanical Properties and Water Vapor Barrier: A Review', *Composites from Renewable and Sustainable Materials*. doi: 10.5772/65397.

Periódico Oficial del Estado de Jalisco (2019) 'Norma Ambiental Estatal NAE-SEMADET-010/2019, que establece criterios y especificaciones técnicas para la producción de bolsas de plástico para acarreo y popotes de un solo uso que vayan a ser distribuidas y/o comercializadas en el Edo. de Jalisco', pp. 1–16.

Philp, J. C. *et al.* (2013) 'Bioplastics science from a policy vantage point', *New Biotechnology*, 30(6), pp. 635–646. doi: 10.1016/j.nbt.2012.11.021.

Pickering, K. L., Efendy, M. G. A. and Le, T. M. (2016) 'A review of recent developments in natural fibre composites and their mechanical performance', *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 83, pp. 98–112. doi: 10.1016/j.compositesa.2015.08.038.

Pino, M. S. *et al.* (2019) 'Enhancement and modeling of enzymatic hydrolysis on cellulose from agave bagasse hydrothermally pretreated in a horizontal bioreactor', *Carbohydrate Polymers*, 211(January), pp. 349–359. doi: 10.1016/j.carbpol.2019.01.111.

Quecholac-Piña, X. *et al.* (2020) 'Degradation of plastics under anaerobic conditions: A short review', *Polymers*, 12(1), pp. 1–18. doi: 10.3390/polym12010109.

Radoor, S. *et al.* (2020) 'A review on the extraction of pineapple, sisal and abaca fibers and their use as reinforcement in polymer matrix', *Express Polymer Letters*, 14(4), pp. 309–335. doi: 10.3144/expresspolymlett.2020.27.

Ran, H. *et al.* (2014) 'Analysis of biodegradation performance of furfural and 5-hydroxymethylfurfural by *Amorphotheca resinae* ZN1', *Biotechnology for Biofuels*, 7(1), pp. 1–12. doi: 10.1186/1754-6834-7-51.

Ray, D. (2015) 'State-of-the-art applications of natural fiber composites in the industry', *Natural Fiber Composites*, pp. 319–340. doi: 10.1201/b19062.

Rizal, W. A. *et al.* (2020) 'Alkaline pretreatment of sugarcane bagasse on pilot scale reactor', *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 462(1). doi: 10.1088/1755-1315/462/1/012056.

Robles-García, M. Á. *et al.* (2018) 'Nanofibers of cellulose bagasse from Agave tequilana Weber var. azul by electrospinning: preparation and characterization', *Carbohydrate Polymers*, 192(January), pp. 69–74. doi: 10.1016/j.carbpol.2018.03.058.

Sannigrahi, P., Ragauskas, A. J. and Miller, S. J. (2008) 'Effects of Two-Stage Dilute Acid Pretreatment on the Structure and Composition of Lignin and Cellulose in Loblolly Pine', *BioEnergy Research*, 1(3–4), pp. 205–214. doi: 10.1007/s12155-008-9021-y.

Shahinur, S. and Hasan, M. (2020) *Jute/Coir/Banana Fiber Reinforced Bio-Composites: Critical Review of Design, Fabrication, Properties and Applications, Encyclopedia of Renewable and Sustainable Materials*. Elsevier Ltd. doi: 10.1016/b978-0-12-803581-8.10987-7.

Shanks, R. A., Hodzic, A. and Wong, S. (2004) 'Thermoplastic biopolyester natural fiber composites', *Journal of Applied Polymer Science*, 91(4), pp. 2114–2121. doi: 10.1002/app.13289.

Shinde, S. D. *et al.* (2018) 'Recent advances in understanding the pseudo-lignin formation in a lignocellulosic biorefinery', *Green Chemistry*, 20(10), pp. 2192–2205. doi: 10.1039/c8gc00353j.

Sidi-Yacoub, B. *et al.* (2019) 'Characterization of lignocellulosic components in exhausted sugar beet pulp waste by TG/FTIR analysis', *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 138(2), pp. 1801–1809. doi: 10.1007/s10973-019-08179-8.

Silva, G. G. *et al.* (2000) 'Mechanical and Thermal Characterization of Native Brazilian Coir Fiber', *Journal of Applied Polymer Science*, 76(7), pp. 1197–1206. doi: 10.1002/(SICI)1097-4628(20000516)76:7<1197::AID-APP23>3.0.CO;2-G.

Sinha, E. and Panigrahi, S. (2009) 'Effect of plasma treatment on structure, wettability of jute fiber and flexural strength of its composite', *Journal of Composite Materials*, 43(17), pp. 1791–1802. doi: 10.1177/0021998309338078.

Skinner, H. C. W. and Jahren, A. H. (2007) 'Chapter 8: Biomineralization', *Treatise on geochemistry*, p. 69.

Sluiter, A. *et al.* (2011) 'Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass', 2011(July).

Sluiter, A. *et al.* (2012) 'Determination of structural carbohydrates and lignin in Biomass - NREL/TP-510-42618', *Laboratory Analytical Procedure (LAP)*, (April 2008), p. 17. Available at: <http://www.nrel.gov/docs/gen/fy13/42618.pdf>.

Solarte-Toro, J. C. *et al.* (2020) 'Effect of dilute sulfuric acid pretreatment on the physicochemical properties and enzymatic hydrolysis of coffee cut-stems', *Energy*, 195. doi: 10.1016/j.energy.2020.116986.

Souza, M. A. de *et al.* (2022) 'Polysaccharides in Agro-Industrial Biomass Residues', *Polysaccharides*, 3(1), pp. 95–120. doi: 10.3390/polysaccharides3010005.

Sriariyanun, M. *et al.* (2017) 'Effect of Organic Acid Pretreatment on Napier Grass (Pennisetum purpureum) Straw Biomass Conversion', *The Journal of King Mongkut's University of Technology North Bangkok*, (June). doi: 10.14416/j.ijast.2017.05.005.

Sritrakul, N., Nitisinprasert, S. and Keawsompong, S. (2017) 'Evaluation of dilute acid pretreatment for bioethanol fermentation from sugarcane bagasse pith', *Agriculture and Natural Resources*, 51(6), pp. 512–519. doi: 10.1016/j.anres.2017.12.006.

Sundberg, C., Smårs, S. and Jönsson, H. (2004) 'Low pH as an inhibiting factor in the transition from mesophilic to thermophilic phase in composting', *Bioresource Technology*, 95(2), pp. 145–150. doi: 10.1016/j.biortech.2004.01.016.

Thakur, V. K. and Thakur, M. K. (2014) 'Processing and characterization of natural cellulose fibers/thermoset polymer composites', *Carbohydrate Polymers*, 109, pp. 102–117. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.03.039.

Tiseo, I. (2022) *Annual production of plastics worldwide from 1950 to 2020 (in million metric tons)*, *Statista*. Available at: <https://www.statista.com/statistics/282732/global-production-of-plastics-since-1950/>.

Torres-Tello, E. V. *et al.* (2017) 'Effect of agave fiber content in the thermal and mechanical properties of green composites based on polyhydroxybutyrate or poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate)', *Industrial Crops and Products*, 99, pp. 117–125. doi: 10.1016/j.indcrop.2017.01.035.

Valdez-Guzmán, B. E. *et al.* (2019) 'Enhancing biohydrogen production from Agave tequilana bagasse: Detoxified vs. Undetoxified acid hydrolysates', *Bioresource Technology*, 276(December 2018), pp. 74–80. doi: 10.1016/j.biortech.2018.12.101.

Vanessa Joselyn Aguilar Salazar, J. B. V. (no date) *Metodología Biodegradabilidad aerobia*.

Vanholme, R. *et al.* (2008) 'Lignin engineering', *Current Opinion in Plant Biology*, 11(3), pp. 278–285. doi: 10.1016/j.pbi.2008.03.005.

Vieira, M. G. A. *et al.* (2011) 'Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review',

European Polymer Journal, 47(3), pp. 254–263. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2010.12.011.

Wang, L. Q., Cai, L. Y. and Ma, Y. L. (2020) 'Study on inhibitors from acid pretreatment of corn stalk on ethanol fermentation by alcohol yeast', *RSC Advances*, 10(63), pp. 38409–38415. doi: 10.1039/d0ra04965d.

Whistler, R. L. (2012) 'Hemicelluloses', *Industrial Gums: Polysaccharides and Their Derivatives: Third Edition*, pp. 295–308. doi: 10.1016/B978-0-08-092654-4.50015-2.

Wichuk, K. M. and McCartney, D. (2010) 'Compost stability and maturity evaluation - a literature review', *Canadian Journal of Civil Engineering*, 37(11), pp. 1505–1523. doi: 10.1139/L10-101.

Yaashikaa, P. R., Senthil Kumar, P. and Varjani, S. (2022) 'Valorization of agro-industrial wastes for biorefinery process and circular bioeconomy: A critical review', *Bioresource Technology*, 343(October 2021), p. 126126. doi: 10.1016/j.biortech.2021.126126.

Yilmaz Celebioglu, H. *et al.* (2012) 'Effect of extraction conditions on hemicellulose yields and optimisation for industrial processes', *International Journal of Food Science and Technology*, 47(12), pp. 2597–2605. doi: 10.1111/j.1365-2621.2012.03139.x.

Zhong, Y. *et al.* (2020) 'Biodegradable polymers and green-based antimicrobial packaging materials: A mini-review', *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, 3(1), pp. 27–35. doi: 10.1016/j.aiepr.2019.11.002.

Zhuang, J. *et al.* (2020) 'Observation of potential contaminants in processed biomass using fourier transform infrared spectroscopy', *Applied Sciences (Switzerland)*, 10(12), pp. 1–13. doi: 10.3390/app10124345.

Zoghiami, A. and Paës, G. (2019) 'Lignocellulosic Biomass: Understanding Recalcitrance and Predicting Hydrolysis', *Frontiers in Chemistry*, 7(December). doi:

10.3389/fchem.2019.00874.