



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

“Aislamiento, purificación y caracterización de un microorganismo productor de biopolímeros obtenido a partir de *Ulomoides dermestoides* y optimización de los parámetros cinéticos de producción.”

TESIS Y EXAMEN PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN QUÍMICA INDUSTRIAL

PRESENTAN:

KARLA IVONNE MALDONADO DAMIÁN

ISELA VANESSA RAMÍREZ ANDRADE

ASESORA: DRA. RAQUEL GÓMEZ PLIEGO

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis.

Aislamiento, purificación y caracterización de un microorganismo productor de biopolímeros obtenido a partir de *Ulomoides dermestoides* y optimización de los parámetros cinéticos de producción.

Que presenta la pasante: Karla Ivonne Maldonado Damián

Con número de cuenta: 309199735 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Química Industrial

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 05 de Diciembre de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M.F. Ma. del Rosario Rodríguez Hidalgo	
VOCAL	Dra. Raquel Gómez Pliego	
SECRETARIO	QFB. Jonathan Pablo Paredes Juárez	
1er. SUPLENTE	M.C. Víctor Hugo Vázquez Valadez	
2do. SUPLENTE	QFB. Moisés Missael Martínez Mejía	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis.

Aislamiento, purificación y caracterización de un microorganismo productor de biopolímeros obtenido a partir de *Ulomoides dermestoides* y optimización de los parámetros cinéticos de producción.

Que presenta la pasante: Isela Vanessa Ramírez Andrade
Con número de cuenta: 415113438 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Química Industrial

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 05 de Diciembre de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M.F. Ma. del Rosario Rodríguez Hidalgo	
VOCAL	Dra. Raquel Gómez Pliego	
SECRETARIO	QFB. Jonathan Pablo Paredes Juárez	
1er. SUPLENTE	M.C. Víctor Hugo Vázquez Valadez	
2do. SUPLENTE	QFB. Moisés Missael Martínez Mejía	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*

Agradecimientos a la UNAM

Agradecemos a la **Universidad Nacional Autónoma de México** por toda la formación, las experiencias y las oportunidades que nos ha brindado, por permitirnos ser mejores cada día y desarrollarnos como profesionistas.

Gracias a la **Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán** por los años que pasamos en sus instalaciones, por todas las experiencias que ahora tenemos y por ser siempre nuestra segunda casa.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPIRITU”

¡Gracias mi querida Universidad!

A la **Dra. Raquel Gómez Pliego** por no ser solo nuestra directora, por escucharnos y ayudarnos siempre a mejorar, gracias por tomar parte de su tiempo para enseñarnos y apoyarnos en las decisiones diarias, por todos los momentos que hemos compartido juntas y por ser siempre la voz de la experiencia para nosotras, estaremos siempre agradecidas con usted. **La queremos mucho.**

Agradecemos a la Técnico Académico **M. en C. Sofía González Gallardo** responsable del Laboratorio de Microscopía Electrónica en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de Campo 4 de la FESC por su apoyo en la Microscopía Electrónica de Barrido para la realización de este proyecto.

¡Gracias!

Dedicatorias de Karla

Gracias a Dios por permitirme estar aquí.

A mi mamá Mirna:

Gracias por no rendirte jamás conmigo, por no soltarme a pesar de lo pesada que puedo ser y siempre impulsarme a ser mejor, **te amo** y espero vivir muchas más aventuras contigo.

A mi papá Ramón:

Te estaré siempre agradecida por todo lo que has hecho por mí, por quererme como un padre y por escucharme en mis momentos tristes, por tener siempre un chiste para hacerme reír y por confiar en que podía lograrlo a pesar de las dificultades. **Te quiero mucho papá.**

A mis hermanitos:

Mis bebés, **los amo**, gracias por siempre escucharme, sé que no soy la mejor hermana mayor ni el mejor ejemplo para seguir, pero estaré siempre al pendiente de ustedes, intentando apoyarlos y guiarlos en lo que pueda, gracias por ser mis hermanos.

A mi Abia:

Gracias mami por ser mi amiga todos estos años, por consentirme y apoyarme, quiero que estés muchos años más a mi lado y podamos vivir muchas cosas juntas. **Te quiero mucho.**

A Mauricio Mercado:

Amor gracias por apoyarme siempre, por estar en las buenas y en las malas, por no dejar que aventara todo y por impulsarme a crecer siempre, por confiar en que puedo ser más, deseo poder compartir toda la vida contigo. **Te amo.**

A mi compañera de tesis Vane:

Gracias Vane por todas las aventuras que vivimos, unas más divertidas que otras, pero todas muy buenas, gracias por escucharme y dejar que te escuchara, por compartir conmigo todo este tiempo. **Te quiero mucho** y espero nuestra amistad siga por mucho más.

Gracias también a todas las personas que me apoyaron y no pude mencionar, estaré siempre agradecida.

Dedicatorias de Vanessa

A mi padre:

Por creer siempre en mí, apoyarme en todo momento y por enseñarme lo que verdaderamente importa. Gracias por darme una buena educación y construir los cimientos de todas mis metas. Gracias por ayudarme a dar mis primeros pasos en la escuela porque todo eso, ha forjado lo que soy. **Te amo y te extraño muchísimo.**

A mi madre:

Por el apoyo que me brindaste para poder estar donde hoy estoy. Sé que no importa lo que necesite, si estoy en problemas puedo confiar en ti. Gracias por la comida tan deliciosa que me dabas cuando ya no podía más, porque todo eso me sanó. **Te amo.**

A Mamá Rosa:

Por apoyarme en todo momento, por toda la educación y por todo el cariño que usted me brindó. Gracias por escucharme y siempre estar para mí a pesar de mi mal carácter. Siempre le estaré agradecida. **La amo.**

A Mamá Chuy:

Por transmitir paz al exterior, por siempre estar dispuesta a brindarme de lo mucho o poco que tienes. Gracias porque siempre es bueno tener a alguien que te ayude a sentirte bien contigo mismo. **Te amo.**

A mi compañera de tesis Karla Maldonado:

Más que mi compañera, eres mi amiga, una persona que me apoya incondicionalmente. Gracias por jamás permitirme caer, por todos los consejos, por todas esas charlas motivacionales. Tengo tantas cosas que agradecerte, que no me basta el tiempo que hemos compartido juntas, es por eso que quiero y espero que puedas compartir muchos momentos más conmigo. **Te quiero.**

A mi familia y amigos:

Gracias por todos los momentos que viví con cada uno, porque cada risa y momento inspiracional me ayudo a concluir esta parte de mi vida. Sé que los retos continúan pero también sé que cuento con cada uno de ustedes.

Y gracias a todos los que me apoyaron, a los que me ayudaron, a los que me compartieron parte de sus conocimientos y a los que hicieron esto posible, se los agradezco infinitamente.

Índice

Título	Páginas
Lista de Abreviaturas.	11
Índice de Figuras.	14
Índice de Esquemas.	18
Índice de Tablas.	19
Índice de Gráficas.	21
Resumen.	22
Abstract.	23
1. Objetivos	24
1.1. General	25
1.2. Particulares	25
2. Introducción	26
3. Marco teórico	28
3.1. Historia de los polímeros	29
3.2. Definición de polímero	30
3.3. Clasificación y tipos de polímeros	30
3.3.1. Por su origen	32
• Naturales	
• Sintéticos	
3.3.2. Por la estructura de la cadena	33
• Lineal	
• Ramificado	
• Entrecruzado	
3.3.3. Por la composición de sus monómeros	34
• Homopolímero	
• Copolímero	
3.3.4. Por su estructura física	34
• Cristalino	
• Amorfo	
3.3.5. Por su tacticidad	35
• Isotáctico	
• Sindiotáctico	
• Atáctico	
3.3.6. Por su comportamiento térmico	36
• Termoplásticos	
• Termofijos o termoestables	

3.3.7. Por su mecanismo de síntesis	37
• Adición o crecimiento de cadena	
• Condensación o en Etapas	
3.4. Aditivos	39
3.5. Contaminación causada por plásticos	40
3.6. Rutas de degradación de los plásticos	45
3.7. Alternativas contra la contaminación	47
3.7.1. Reciclamiento de plásticos	48
3.8. Biopolímeros	49
3.9. Fuentes de obtención y clasificación de los biopolímeros	54
3.10. Microorganismos productores de biopolímeros	55
3.11. Generalidades de <i>Acrostalagmus luteoalbus</i>	59
3.12. Sustratos utilizados para la producción de biopolímeros	60
3.13. Generalidades de los sustratos utilizados	60
3.13.1. Olote	62
3.13.2. Cáscara de naranja	64
3.13.3. Cáscara de tuna	66
3.13.4. Fruto de tejocote sin semilla	67
3.13.5. Cáscara de plátano	68
3.14. Caracterización de polímeros y biopolímeros	69
3.15. Procesamiento de biopolímeros	70
3.16. Ventajas y desventajas de los biopolímeros comparados con los polímeros	71
3.16.1. Ventajas	71
3.16.2. Desventajas	73
3.17. Aplicaciones	75
3.17.1. Polímeros	75
3.17.2. Biopolímeros	76
4. Justificación	77
5. Hipótesis	80
6. Metodología	82
6.1. Preparación de medios de cultivo para el aislamiento y purificación	83
6.1.1. Agar papa dextrosa	83
6.1.2. Agar dextrosa Sabouraud	83
6.2. Aislamiento y purificación del microorganismo a partir de <i>Ulomoides dermestoides</i>	84
6.3. Identificación del microorganismo	84

6.4. Formulación de los medios de cultivo de producción de biopolímero	85
6.4.1. Hidrólisis ácida del sustrato	85
6.4.2. Preparación del medio de cultivo	85
6.5. Producción del biopolímero	87
6.5.1. Inoculación del microorganismo en el medio de producción de biopolímero	87
6.5.2. Recuperación y purificación del biopolímero	87
6.6. Caracterización del biopolímero	88
6.6.1. Microscopía electrónica de barrido	88
6.6.2. Determinación de punto de fusión	89
6.6.3. Prueba de combustión	90
6.6.4. Pruebas de solubilidad	90
6.6.5. Análisis elemental	90
6.6.6. Termogravimetría (TGA) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	91
6.7. Diagrama de flujo	94
7. Resultados y Discusión	100
7.1. Identificación del microorganismo por morfología macroscópica y microscópica	101
7.2. Identificación del microorganismo por la técnica de PCR	103
7.3. Producción de biopolímero	104
7.4. Microscopía electrónica de barrido	113
7.5. Caracterización del biopolímero	118
7.5.1. Pruebas fisicoquímicas	118
7.5.2. Análisis elemental (CHNS).	119
7.5.3. Termogravimetría (TGA) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	120
8. Conclusiones	124
9. Referencias bibliográficas	127
10. Anexos	137

Lista de Abreviaturas

Abreviatura	Descripción
ΔT	Diferencial de temperatura
A	Adenina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
AIMPLAS	Instituto Tecnológico del Plástico
RNA	Ácido ribonucleico
ASTM	Por sus siglas en inglés American Society for Testing and Materials
BS	Base seca
BSE	Electrones retrodispersados
C	Citosina
CCA	Comisión para la Cooperación Ambiental
DCT	Detector de conductividad térmica
DSC	Calorimetría Diferencial de Barrido
EI	Electrones incidentes
EPS	Poliestireno expandido
FTIR	Espectroscopía infrarrojo por transformada de Fourier
G	Guanina
GPC	Cromatografía de permeación de gel
ha	Hectárea
HDPE	Polietileno de alta densidad
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía

IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
LANISAF	Laboratorio Nacional de Investigación y Servicio Agroalimentario y Forestal
LDPE	Polietileno de baja densidad
LLDPE	Polietileno lineal de baja densidad
ONU	Organización de las Naciones Unidas
P(3HB-co-3HV)	Poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato).
P3HB	Poli-3-hidroxibutirato
PBAT	Poli(Butilén Adipato-co-Tereftalato)
PBS	Polisuccinato de butileno
PBSA	Poli(succinato-co-adipato de butileno)
PCL	Policaprolactona
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa.
PDA	Agar papa desxtrosa
PE	Polietileno
PET	Tereftalato de polietileno
PG	Poligalacturonasa
PHA	Polihidroxialcanoatos
PHB	Polihidroxibutirato
PLA	Ácido Poliláctico
PP	Polipropileno
PS	Poliestireno
PUR	Poliuretano
PVC	Policloruro de vinilo

PVOH	Alcohol polivinílico
SAGARPA	Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural
SDA	Agar dextrosa sabouraud
SE	Electrones secundarios
SED	Por sus siglas en inglés solid state detector
SEM	Microscopía electrónica de barrido
SSFE	Solución salina fisiológica estéril
T	Timina
TEM	Microscopía Electrónica de Transmisión
Tg	Temperatura de Transición vítrea
TGA	Análisis Termogravimétrico
TMA	Análisis Termomecánico
ton	Tonelada.
Tp	Temperatura programada
UV	Ultravioleta

Índice de Figuras

No. Figura	Título	Páginas
Figura 1	Semillas de planta de algodón.	29
Figura 2	Versatilidad de los plásticos actuales.	30
Figura 3	Obtención del caucho natural.	32
Figura 4	Estructura de la baquelita.	32
Figura 5	(a) Polímero lineal. (b) Polímero ramificado. (c) Polímero entrecruzado.	33
Figura 6	Diferentes copolímeros: (a) Dos tipos diferentes de monómeros se colocan al azar. (b) Copolímeros alternados. (c) Copolímeros de bloque. (d) Copolímero de injerto.	34
Figura 7	(a) Polímero de estructura amorfa. (b) Polímero de estructura cristalina.	35
Figura 8	(a) Polímero isotáctico. (b) Polímero sindiotáctico. (c) Polímero atáctico.	36
Figura 9	Diferencias en las uniones químicas. (a) Termoplásticos. (b) Termofijos o termoestables.	36
Figura 10	Esquema del gránulo de PHA acumulado intracelularmente.	57
Figura 11	Crecimiento macroscópico de <i>Acrostalagmus luteoalbus</i> .	59
Figura 12	Estructura microscópica de <i>Acrostalagmus luteoalbus</i> .	60
Figura 13	Olote de maíz.	62
Figura 14	Estructura del xilano.	63
Figura 15	Imagen representativa de la pared celular de una planta.	64
Figura 16	Cáscara de naranja.	65

Figura 17	Cáscara de tuna.	66
Figura 18	Fruto de tejocote.	67
Figura 19	Cáscara de plátano.	68
Figura 20	Ejemplos de diferentes usos de los polímeros.	75
Figura 21	Ejemplos de diferentes usos de los biopolímeros.	76
Figura 22	Etapa 1: Aislamiento y purificación del microorganismo.	84
Figura 23	Etapa 2: Identificación del microorganismo.	85
Figura 24	Etapa 3: Formulación de los medios de cultivo para la producción de biopolímero.	87
Figura 25	Etapa 4: Producción del biopolímero.	88
Figura 26	Microscopio electrónico de barrido.	89
Figura 27	Equipo Fisher-Johns.	90
Figura 28	Etapa 5: Caracterización del biopolímero.	92
Figura 29	Crecimiento macroscópico de <i>Acrostalagmus luteoalbus</i> en los diferentes medios utilizados a las tres semanas.	101
Figura 30	Crecimiento macroscópico de <i>Acrostalagmus luteoalbus</i> a las once semanas.	101
Figura 31	a) Microcultivo realizado para <i>Acrostalagmus luteoalbus</i> . b) Microscopía con azul de lactofenol vista a 1000 X con microscopio óptico compuesto.	102
Figura 32	Estructura microscópica de <i>Acrostalagmus luteoalbus</i> .	103
Figura 33	Producción de biopolímero en medio de cultivo utilizando sacarosa como sustrato visto a través del microscopio estereoscópico a 4x.	104
Figura 34	Producción de biopolímero en refractario de vidrio, utilizando sacarosa como sustrato.	105

Figura 35	Producción de biopolímero en medio de cultivo utilizando cáscara de tuna como sustrato.	105
Figura 36	Biopolímeros después de lavar a reflujo por 3 horas.	106
Figura 37	Micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido. a) Polietileno de alta densidad (HDPE). b) Polihidroxialcanoato (PHA).	114
Figura 38	Micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido del biopolímero formado durante siete y diez semanas de producción utilizando como fuente de carbono cáscara de naranja.	114
Figura 39	Micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido del biopolímero formado durante cinco y diez semanas de producción utilizando como fuente de carbono olote.	115
Figura 40	Micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido del biopolímero formado durante cinco y diez semanas de producción utilizando como fuente de carbono cáscara de tuna.	116
Figura 41	Micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido del biopolímero formado durante cinco y diez semanas de producción utilizando como fuente de carbono pulpa con cáscara de tejocote.	116
Figura 42	Micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido del biopolímero formado durante siete y diez semanas de producción utilizando como fuente de carbono cáscara de plátano.	117
Figura 43	Micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido del biopolímero formado durante una y diez semanas de producción utilizando como fuente de carbono sacarosa.	117
Figura 44	Espectrómetro de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).	138
Figura 45	Equipo para cromatografía de permeación de gel (GPC).	140

Figura 46	Equipo para microscopía electrónica de barrido (SEM).	141
Figura 47	Equipo para análisis dinamicomecánico.	142
Figura 48	Diseño genérico de un extrusor.	143
Figura 49	Proceso de extrusión por soplado.	144
Figura 50	Diseño genérico para moldeo por inyección.	144
Figura 51	Proceso de termoconformado.	145
Figura 52	Hilado por fusión.	147
Figura 53	Estructura y replicación del DNA.	149
Figura 54	Representación gráfica del flujo de información genética y de los procesos implicados en él.	150
Figura 55	Esquema de un equipo de SEM.	153
Figura 56	Secuencia del proceso de formación de la imagen.	154
Figura 57	Esquema de TGA.	156
Figura 58	Esquema de un aparato de DSC.	158
Figura 59	a) y b) Resultados experimentales para la secuenciación de DNA de <i>Acrostalagmus luteoalbus</i> .	161

Índice de Esquemas

No. Esquemas	Título	Páginas
Esquema 1	Clasificación principal de los polímeros.	31
Esquema 2	Clasificación de los plásticos degradables.	50
Esquema 3	Ciclo de vida de los polímeros biodegradables provenientes de fuentes renovables.	51
Esquema 4	Mecanismo general de biodegradación de los plásticos.	54
Esquema 5	Clasificación de algunos biopolímeros de acuerdo a la fuente de obtención.	55
Esquema 6	Diagrama general de producción de PHA's.	58
Esquema 7	Ventajas que presenta el uso de biopolímeros.	73

Índice de Tablas

No. Tabla	Título	Páginas
Tabla 1	Ejemplos de polímeros obtenidos por condensación.	38
Tabla 2	Diferencias entre los mecanismos de polimerización.	38
Tabla 3	Rutas de degradación de los polímeros.	46
Tabla 4	Principales microorganismos productores de biopolímeros.	56
Tabla 5	Composición nutrimental de la cáscara de naranja.	65
Tabla 6	Técnicas de evaluación de parámetros para la caracterización macromolecular.	69
Tabla 7	Principales métodos de procesamiento.	70
Tabla 8	Procesado de biodegradables.	71
Tabla 9	Componentes utilizados en la formulación de los diferentes medios de cultivo (g/L).	86
Tabla 10	Condiciones analíticas del analizador elemental Perkin Elmer modelo PE2400.	91
Tabla 11	Identificación del microorganismo por la técnica de PCR.	103
Tabla 12	Resultados de la media del rendimiento de biopolímero $Y_{p/s} \pm$ el error estándar, expresado en porcentaje.	107
Tabla 13	Resultados experimentales obtenidos de las pruebas fisicoquímicas utilizando diferentes fuentes de carbono.	118
Tabla 14	Resultados experimentales obtenidos a partir del analizador elemental Perkin Elmer 2400.	119

Tabla 15	Resultados experimentales obtenidos a partir del análisis termogravimétrico con equipo Perkin Elmer TGA4000.	120
Tabla 16	Resultados experimentales obtenidos a partir de la prueba de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) en un equipo Mettler Toledo DSC1.	120
Tabla 17	Variables importantes en la técnica DSC.	157
Tabla 18	Interpretación de curvas de DSC.	159

Índice de Gráficas

No. Gráficas	Título	Páginas
Gráfica 1	Demanda mundial de materiales plásticos por tipos de resina 2006.	42
Gráfica 2	Producción de biopolímero expresado en porcentaje en función del tiempo utilizando como sustrato cáscara de naranja.	108
Gráfica 3	Producción de biopolímero expresado en porcentaje en función del tiempo utilizando como sustrato olote.	109
Gráfica 4	Producción de biopolímero expresado en porcentaje en función del tiempo utilizando como sustrato cáscara de tuna.	110
Gráfica 5	Producción de biopolímero expresado en porcentaje en función del tiempo utilizando como sustrato pulpa con cáscara de tejocote.	111
Gráfica 6	Producción de biopolímero expresado en porcentaje en función del tiempo utilizando como sustrato cáscara de plátano.	112
Gráfica 7	Producción de biopolímero expresado en porcentaje en función del tiempo utilizando como sustrato sacarosa.	113
Gráfica 8	Termograma realizado a partir del análisis termogravimétrico (TGA). Porcentaje en masa vs temperatura.	122
Gráfica 9	Termograma realizado a partir del análisis de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). Potencia transmitida vs temperatura.	123

RESUMEN

Actualmente, uno de los principales problemas a los que se enfrenta la sociedad es al manejo indiscriminado de plásticos de un solo uso, ya que este tipo de materiales poseen un largo periodo de degradación por lo que terminan acumulándose en el suelo, agua y aire, al no reciclarse de manera adecuada, causan un fuerte impacto ambiental, por lo cual, se hace necesaria la búsqueda de alternativas a los plásticos sintéticos que sean amigables con el medio ambiente y que además cubran las necesidades diarias.

Los biopolímeros han sido considerados como los materiales más prometedores para este propósito, hasta el momento, se conocen más de 300 bacterias (Gram negativas y Gram positivas), y hongos productores de biopolímeros, sin embargo, a pesar de que algunos de ellos presentan altas eficiencias en la transformación de los sustratos y concentración final del biopolímero, son muy pocos los microorganismos que se utilizan para este propósito a nivel industrial.

El objetivo de este trabajo fue aislar, purificar y caracterizar un hongo productor de biopolímeros obtenido del escarabajo *Ulomoides dermestoides*, y optimizar los parámetros cinéticos de producción, utilizando residuos de tipo orgánico como fuente de carbono: cáscara de naranja, olote, cáscara de tuna, pulpa con cáscara de tejocote, cáscara de plátano y sacarosa.

El microorganismo aislado fue identificado por la técnica de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) mientras que los biopolímeros presentaron características diferentes a lo largo de las once semanas de producción, determinado por: pruebas de solubilidad, combustión, punto de fusión, microscopía electrónica de barrido, análisis elemental, análisis termogravimétrico y calorimetría diferencial de barrido.

Finalmente, los cálculos de rendimiento (Y_p/s , gramos de producto / gramo de sustrato), mostraron que la pulpa con cáscara de tejocote fue el mejor sustrato para producir el biopolímero, el valor máximo se alcanzó a la semana nueve (17.10%), seguido de sacarosa (15.62%) en la semana diez.

ABSTRACT

Currently, one of the main problems facing society is the indiscriminate handling of single-use plastics, since this type of materials has a long period of degradation, so they end up accumulating in the soil, water and air. When biopolymers are not recycled properly, they cause a strong environmental impact, therefore, it is necessary to find alternatives to synthetic plastics that are friendly to the environment and also cover daily needs.

Biopolymers have been considered as the most promising materials for this purpose, so far, more than 300 species of bacteria are known (Gram negative and Gram positive), and fungi producing biopolymers, however, although some of them present high efficiencies in the transformation of substrates and final concentration of the biopolymer, there are very few the microorganisms that are used for this purpose at the industrial level.

The objective of this work was to isolate, purify and characterize a fungus biopolymers producer obtained from the *Ulomoides dermestoides* beetle, and optimize the kinetic parameters of production, using organic waste as a source of carbon, which were: orange peel, olote, prickly peel, pulp with tejocote peel, banana peel and sucrose.

The isolated microorganism was identified by the PCR technique (Polymerase chain reaction). The biopolymers obtained presented different characteristics throughout the eleven weeks of production, this was determined by tests of solubility, combustion, melting point, scanning electron microscopy, elemental analysis, thermogravimetric analysis, differential scanning calorimetry.

Finally, the yield calculations (Y_p / s , grams of product / gram of substrate), showed that the pulp with tejocote peel was the best substrate to produce the biopolymer, that the maximum value was reached at week nine (17.10%), followed by sucrose (15.62%) in week ten.

1. OBJETIVOS

1. Objetivos.

1.1. General

Aislar, purificar y caracterizar un hongo productor de biopolímero obtenido de *Ulomoides dermestoides*, y optimización de parámetros cinéticos de producción, utilizando residuos de tipo orgánico como fuente de carbono.

1.2. Particulares

- Aislar y purificar un microorganismo productor de biopolímero a partir del gorgojo chino (*Ulomoides dermestoides*).
- Identificar el género del microorganismo por morfología macroscópica y microscópica.
- Identificar el género y especie del microorganismo por la técnica de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa).
- Formular diferentes medios de cultivo sólidos utilizando residuos de tipo orgánico: cáscara de naranja, tuna y plátano, pulpa con cáscara de tejocote, olote y sacarosa, para evaluar el mayor rendimiento de biopolímero (Yp/s).
- Estandarizar las condiciones óptimas de producción del biopolímero: pH, temperatura, condiciones aerobias o anaerobias, presencia o ausencia de luz, etc.
- Observar por Microscopía Electrónica de Barrido la estructura de cada biopolímero formado a diferentes semanas de producción.
- Determinar propiedades fisicoquímicas: flexibilidad, punto de fusión, combustión y solubilidad a las once semanas de producción.
- Caracterizar el biopolímero más flexible por Análisis elemental (CHNS), Termogravimetría (TGA) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).

2. INTRODUCCIÓN

2. Introducción.

La síntesis de polímeros revolucionó al mundo a mediados del siglo XX con la aparición de nuevos materiales con excelentes características, los cuales eran: versátiles, ligeros, baratos y resistentes, por lo que actualmente tienen un uso muy amplio en la manufactura de una gran variedad de productos, esto los ha convertido en un material valioso para la vida moderna, sin embargo, con severos daños al medio ambiente a largo plazo, por su alta resistencia a la degradación, el manejo de desechos de este tipo de materiales ha resultado verdaderamente difícil y muchos de ellos terminan en el mar, en la tierra y en el aire provocando un fuerte impacto ambiental.

Día a día el consumo de plásticos se incrementa de manera alarmante, existen datos que indican que en 1950 el consumo era de 5 millones de toneladas/año, y actualmente es de aproximadamente 200 millones de toneladas/año, el alto consumo y uso indiscriminado ha ocasionado graves problemas para su disposición final, de contaminación visual, muerte de animales que los ingieren accidentalmente, erosión de suelos, etc., si bien se ha explorado y profundizado en diferentes procesos para reciclar o eliminar los plásticos de origen petroquímico del medio ambiente, también se ha impulsado la investigación para el desarrollo de nuevos materiales y tecnologías de producción que permitan generar polímeros que presenten las mismas propiedades, pero que tengan un periodo de degradación menor.

Por lo anterior, se hace necesaria la búsqueda de nuevas fuentes de producción de plásticos que, como ya se mencionó, presenten características de degradación diferentes a las que producimos hoy en día. Una de las opciones pudiera ser el uso potencial de microorganismos para la obtención de este tipo de materiales.

Con el desarrollo de este proyecto de investigación se busca crear una alternativa que sustituya a los polímeros sintéticos, mediante la producción de biopolímeros a partir del microorganismo *Acrostalagmus luteoalbus* que utiliza desechos de tipo orgánico como sustrato para producirlos, los cuales serían amigables con el medio ambiente al presentar un proceso de degradación más corto.

3. MARCO TEÓRICO

3. Marco Teórico.

3.1. Historia de los polímeros.

La ciencia macromolecular es muy reciente, a pesar de ello, el hombre ha utilizado las macromoléculas naturales desde tiempos remotos, como el chicle, la goma arábiga, la lana, el algodón (**Figura 1**), el látex, la celulosa (papel), el asfalto y más tarde el caucho natural (Tuñón I et al., 2010).



Figura 1. Semillas de planta de algodón.

A partir de los años cuarenta el descubrimiento de los procesos de polimerización industrializados permitió la fabricación de plásticos, resinas, fibras sintéticas, cauchos artificiales etc. que constituyen hoy en día una fracción muy importante de la industria química (Tuñón I et al., 2010). Este extraordinario desarrollo ha impulsado grandemente la investigación en este campo, uno de los más activos en la actualidad.

El desarrollo de los plásticos modernos realmente se expandió en los primeros 50 años del siglo XX, con al menos 15 nuevas clases de polímeros sintetizados. El éxito de los plásticos como material ha sido sustancial; se ha demostrado la versatilidad para su uso en una variedad de tipos y formas, incluidos polímeros naturales, modificados, plásticos termoendurecibles, termoplásticos y, más recientemente, plásticos biodegradables (**Figura 2**).



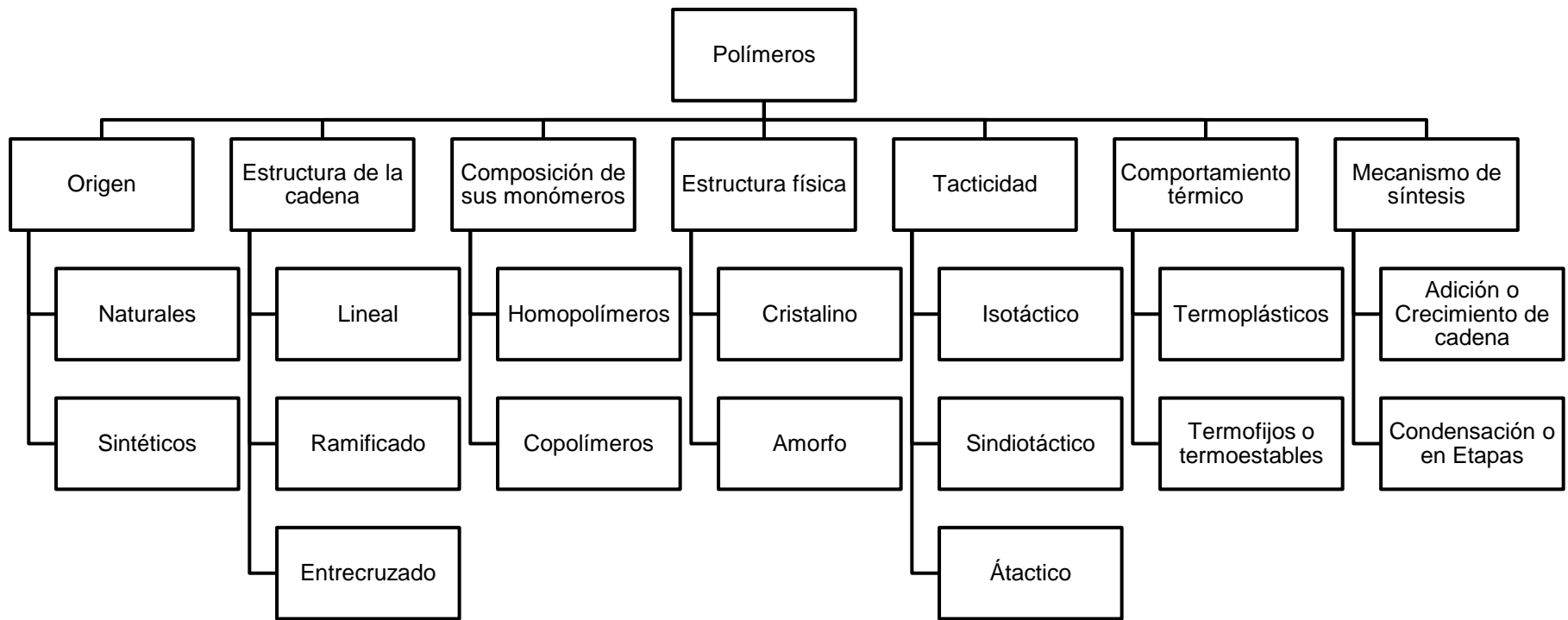
Figura 2. Versatilidad de los plásticos actuales.

3.2. Definición de polímero.

Según la IUPAC, un polímero se define como una macromolécula de alto peso molecular, formada por la repetición de múltiples unidades simples llamadas monómeros (de masa molecular más pequeña), dando como resultado largas cadenas que se unen entre sí por enlaces covalentes, por fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno o interacciones hidrofóbicas, mediante el proceso de polimerización (Gold Book., 2014); estos monómeros pueden tener la misma composición química y estructura (homopolímero), o tener diferente composición (copolímero) (Kozlov Y., 1986).

3.3. Clasificación y tipos de polímeros.

En el **Esquema 1**, se presenta la clasificación principal de los polímeros, basada en diferentes criterios: origen, estructura de la cadena, composición de los monómeros, estructura física, tacticidad, comportamiento térmico y formación.



Esquema 1. Clasificación principal de los polímeros.

3.3.1. Por su origen.

- **Naturales:** Son sustancias producidas por organismos vivos que se emplean sin modificación. Ejemplos de estos polímeros son: proteínas como las empleadas por las arañas para tejer su tela, polisacáridos, caucho natural, etc., (**Figura 3**).



Figura 3. Obtención del caucho natural.

- **Sintéticos:** Son macromoléculas creadas por el hombre a través de reacciones químicas. Por ejemplo: baquelita (**Figura 4**), poliestireno, polimetacrilato de metilo, PVC.

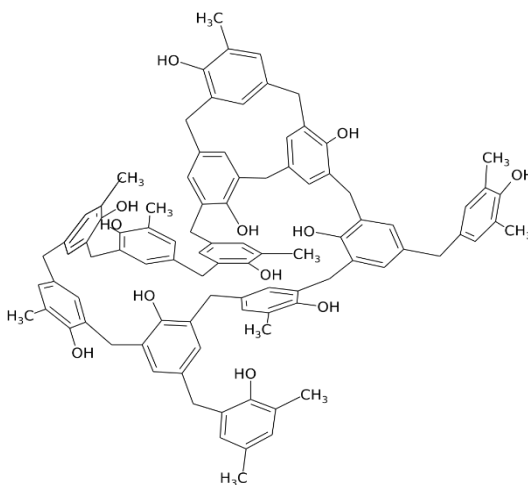


Figura 4. Estructura de la baquelita.

3.3.2. Por la estructura de la cadena.

Según la estructura de la cadena los polímeros se clasifican en lineal, ramificado y entrecruzado como se muestra en la **Figura 5**.

- **Lineal:** Formados por una única cadena sin ramificaciones.
- **Ramificado:** Con ramificaciones o cadenas laterales unidas a la principal.
- **Entrecruzado:** Formación de enlaces con cadenas vecinas.

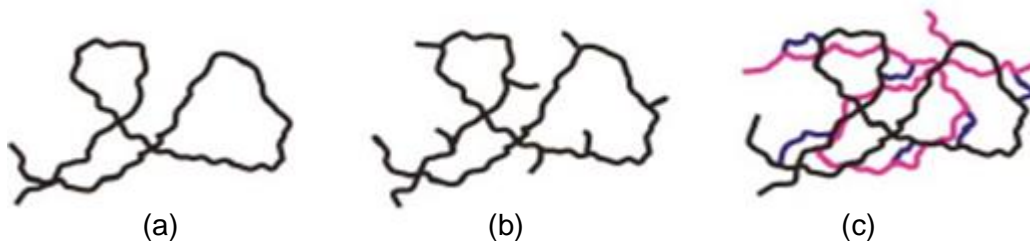


Figura 5. (a) Polímero lineal. (b) Polímero ramificado. (c) Polímero entrecruzado.

Los polímeros lineales y ramificados sirven de base a los materiales plásticos termoplásticos (reversibles). Las macromoléculas de los polímeros lineales representan cadenas que tienen una longitud mayor en cientos de miles que las dimensiones de la sección transversal (Kozlov Y., 1986).

Los polímeros capaces de formar estructuras entrecruzadas, sirven de base para materiales plásticos termofijos (plásticos termoendurecibles), estas se obtienen de las cadenas lineales de polímeros como resultado del surgimiento de uniones transversales. En este caso el polímero se torna completamente infusible e insoluble. Para algunas raras uniones es posible cierto hinchamiento bajo la acción de solventes y un insignificante ablandamiento al calentarse.

3.3.3. Por la composición de sus monómeros.

- **Homopolímeros:** Son aquellos polímeros en los que todos los monómeros que los constituyen son iguales.
- **Copolímeros:** Están formados por dos o más monómeros diferentes (**Figura 6**).

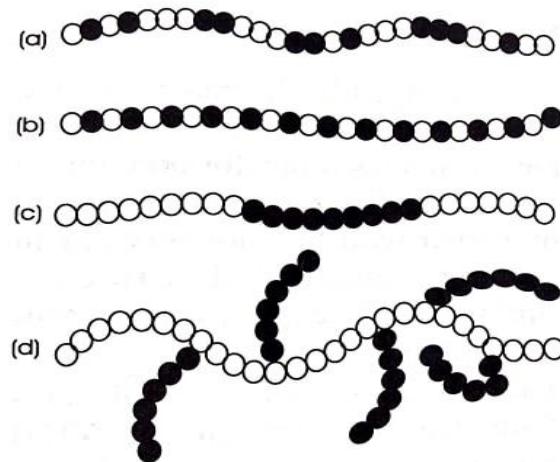


Figura 6. Diferentes copolímeros: (a) Dos tipos diferentes de monómeros se colocan al azar. (b) Copolímeros alternados. (c) Copolímeros de bloque. (d) Copolímero de injerto.

3.3.4. Por su estructura física (**Figura 7**).

- **Cristalino:** La geometría de las macromoléculas permite un arreglo ordenado. Las regiones cristalinas pueden ser grandes dominios o pequeños agregados esféricos de regiones cristalinas las que pueden ocasionar que algunos polímeros sean translúcidos u opacos.
- **Amorfo:** No exhiben orden estructural a lo largo de las cadenas. Esos polímeros generalmente están constituidos por moléculas de forma irregular, las cuales no pueden empacarse de una manera ordenada. (López F et al., 2015).

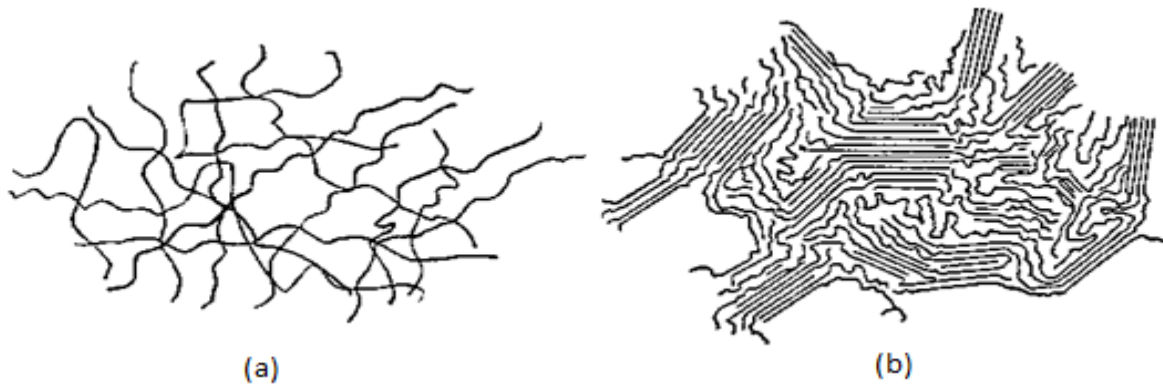


Figura 7. (a) Polímero de estructura amorfa. (b) Polímero de estructura cristalina.

En estado sólido algunos polímeros son completamente amorfos, otros son semicristalinos y, dependiendo de las condiciones de cristalización, un polímero con capacidad de cristalizar puede ser amorfo o semicristalino. Con frecuencia se utiliza el término cristalino en lugar de semicristalino, aunque ningún polímero es completamente cristalino (Beltrán M et al., 2012).

3.3.5. Por su tacticidad.

El término tacticidad se refiere al ordenamiento espacial de las unidades estructurales (Bicerano J., 2002).

- **Isotáctico:** Todos los grupos del mismo lado.
- **Sindiotáctico:** Los grupos están alternados.
- **Atáctico:** Grupos ordenados al azar.

En la **Figura 8**, se muestran los polímeros isotácticos y los sindiotácticos que tienen regularidad estructural y son cristalinos, mientras los atácticos son amorfos.

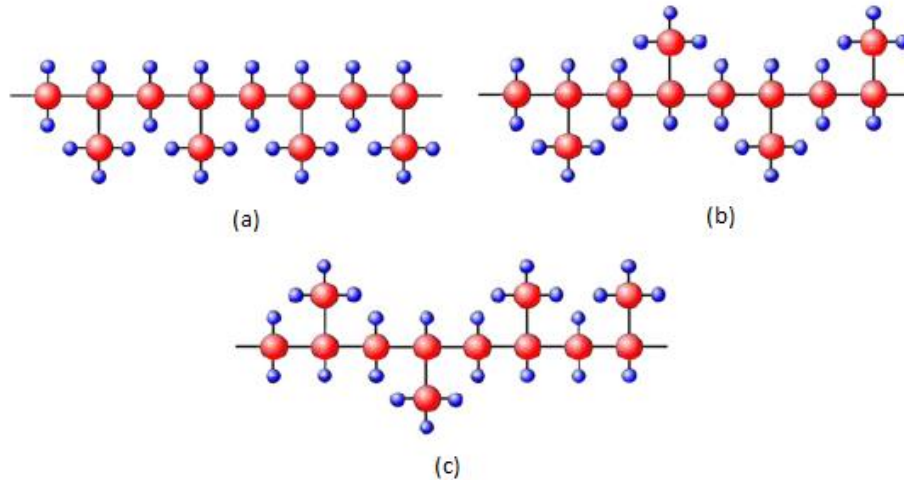


Figura 8. (a) Polímero isotáctico. (b) Polímero sindiotáctico.
(c) Polímero atáctico.

3.3.6. Por su comportamiento térmico.

- **Termoplásticos:** Son polímeros que funden al aumentar la temperatura y pueden ser moldeados fácilmente para darles su forma definitiva, que se estabiliza al enfriar. Este ciclo se puede repetir y permite reciclarlos.
- **Termofijos o termoestables:** Son polímeros reticulados durante la reacción de polimerización o mediante la introducción de entrecruzamientos químicos. Este reticulado no permite que estos polímeros sean reprocesados después de que han sido conformados. (Hermida É., 2011).

En la **Figura 9** se muestran las diferencias en las uniones químicas entre los polímeros termoplásticos y termofijos o termoestables.

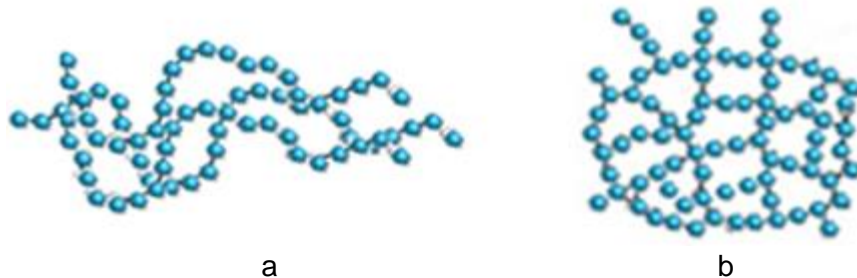
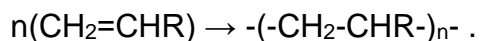


Figura 9. Diferencias en las uniones químicas. a) Termoplásticos.
b) Termofijos o termoestables

3.3.7. Por su mecanismo de síntesis.

Los procesos de polimerización fueron divididos por Carothers (descubridor del Nylon) y Paul J. Flory (premio Nobel de Química 1974) en dos grandes grupos conocidos como polimerización por condensación y por adición, o en una terminología más precisa, polimerización por etapas (o pasos) y de adición en cadena (Odián G., 2004).

- **Adición o Crecimiento de cadena:** La reacción de polimerización tiene lugar por apertura de un doble enlace (monómero vinílico, es decir, pequeñas moléculas conteniendo dobles enlaces (enlace π), triples enlaces carbono-carbono o enlace doble carbono-oxígeno) formando un centro activo y adición sucesiva de moléculas de monómero:



En la formación de los polímeros por adición, el mecanismo de la reacción consta de tres etapas: a) iniciación, b) propagación y c) terminación.

La especie reactiva que puede ser una radical libre, un anión o un catión (iniciación), se adiciona a una molécula de monómero reaccionando con el enlace π para formar un nuevo radical, nuevo anión o catión (propagación). Este proceso se repite hasta que la polimerización se termina (López F et al., 2015).

- **Condensación o en Etapas:** Tiene lugar cuando reaccionan dos o más moléculas de monómero polifuncionales para producir una molécula polifuncional mayor, con la posible eliminación de una molécula pequeña como el agua. La reacción continúa hasta casi la totalidad de que uno de los reactivos ha sido utilizada, se establece un equilibrio que puede desplazarse a voluntad elevando la temperatura, controlando las cantidades de los reactivos y, en el caso de existir, eliminando los productos (Carraher C., 2013). En la **Tabla 1** se muestran los productos más representativos de los

polímeros obtenidos por condensación; mientras que en la **Tabla 2** se presentan las principales características de las reacciones de polimerización (Dotson N et al., 1996).

Tabla 1. Ejemplos de polímeros obtenidos por condensación (López F et al., 2015).

Reactivos	Unión característica	Nombre
$\text{—OH} + \text{—COOH}$	$\text{—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C—O—}$	Poliéster
$\text{—COOH} + \text{—NH}_2$	$\text{—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C—NH—}$	Poliamida
$\text{—COOH} + \text{—COOH}$	$\text{—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C—O—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C—}$	Polianhídrido
$\text{—NCO} + \text{—OH}$	$\text{—O—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C—NH—}$	Poliuretano
$\text{—NCO} + \text{—NH}_2$	$\text{—NH—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C—NH—}$	Poliurea
$\text{—OH} + \text{—OH}$	—O—	Poliéter
$\text{—}\underset{\text{O}}{\text{CH}}\text{—CH}_2$	—O—	Poliéter

Tabla 2. Diferencias entre los mecanismos de polimerización (Dotson N et al., 1996).

Adición o Crecimiento de cadena	Condensación o en Etapas
Generalmente reaccionan monómeros vinílicos.	Se requiere que la funcionalidad del monómero sea mínimo igual a dos.
Únicamente las cadenas en crecimiento adicionan unidades y sólo una unidad a la vez.	Cualquiera de las especies moleculares puede reaccionar.
La concentración de monómero decrece continuamente a lo largo de la reacción.	El monómero desaparece pronto en la reacción: a un grado de polimerización de 10, menos del 1% de monómero está presente.

El polímero de alto peso molecular se forma muy rápido: el peso molecular del polímero cambia poco a lo largo de la reacción.	El peso molecular del polímero se incrementa continuamente a lo largo de la reacción.
Tiempos largos de reacción producen altas conversiones pero afectan poco al peso molecular.	Se requieren tiempos largos de reacción para obtener altos pesos moleculares.
La mezcla de reacción solo contiene monómero, polímero y sólo 10^{-8} cadenas por mol/L que crecen.	En cualquier momento de la reacción, todas las especies están presentes en una distribución calculable.

3.4. Aditivos.

Los polímeros rara vez se usan solos; normalmente, se mezclan con otros materiales llamados "aditivos" para mejorar el rendimiento. Estos pueden incluir rellenos inorgánicos (por ejemplo, carbono o sílice) para reforzar el material, estabilizadores térmicos para permitir que los plásticos se procesen a altas temperaturas, plastificantes para hacer que el material sea flexible, retardadores de fuego para desalentar la ignición y la quema, y estabilizadores UV para evitar la degradación cuando se expone a la luz solar.

También pueden usarse colorantes, agentes matizantes, opacificadores y aditivos de brillo para mejorar la apariencia de un producto plástico. Los aditivos son a menudo el componente más costoso de una formulación, y generalmente se usa la cantidad mínima necesaria para lograr un determinado nivel de rendimiento. Los aditivos se mezclan íntimamente con el polímero o se "combinan" en una formulación que se procesa en la forma del producto final.

Los plastificantes son una clase importante de compuestos no volátiles de bajo peso molecular que se usan ampliamente en las industrias de polímeros como aditivos. El papel principal de tales sustancias es mejorar la flexibilidad y procesabilidad de los polímeros al reducir la temperatura de transición de segundo orden, la temperatura de transición vítrea (T_g).

El consejo de la IUPAC definió un plastificante como "una sustancia o material incorporado en un material (generalmente un plástico o elastómero) para aumentar su flexibilidad, trabajabilidad o distensibilidad". Estas sustancias reducen la tensión de deformación, dureza, densidad, viscosidad y carga electrostática de un polímero, al mismo tiempo que aumentan la flexibilidad de la cadena del polímero, la resistencia a la fractura y la constante dieléctrica. También se ven afectadas otras propiedades, como el grado de cristalinidad, la claridad óptica, la conductividad eléctrica, el comportamiento al fuego y la resistencia a la degradación biológica, entre otras propiedades físicas.

3.5. Contaminación causada por plásticos.

Hace más de medio siglo, los polímeros sintéticos comenzaron a sustituir los materiales naturales en casi todas las áreas y hoy en día los plásticos se han convertido en una parte indispensable de nuestra vida. Con el tiempo, la estabilidad y la durabilidad de los plásticos se han mejorado continuamente, y por lo tanto este grupo de materiales ahora se considera como un sinónimo de materiales que son resistentes a muchas influencias ambientales.

La palabra plástico proviene de la palabra griega "plastikos", que significa "se puede moldear en diferentes formas" (Joel F.R., 1995). Los plásticos que utilizamos están hechos de materias primas inorgánicas y orgánicas, como carbono, silicio, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno y cloro. Los materiales básicos utilizados para la fabricación de plásticos se extraen del petróleo, el carbón y el gas natural (Seymour R., 1989).

El plástico engloba a ciertos tipos de materiales sintéticos obtenidos mediante fenómenos de polimerización o multiplicación artificial de los átomos de carbono en largas cadenas moleculares de compuestos orgánicos (Brito G.F et al., 2011).

Algunas de las propiedades de estos compuestos que los han hecho tan ampliamente usados son:

- La facilidad con que pueden ser trabajados o moldeados.
- Impermeabilidad.
- Baja densidad.
- Baja conductividad eléctrica.
- Resistencia a la corrosión y a la intemperie.
- Resistencia a diversos factores químicos y biológicos.
- Resistencia a la luz.
- Resistencia al agua.
- Bajo costo.
- Útiles en un rango muy amplio de temperaturas.
- Son muy fuertes y resistentes, pero se pueden trabajar fácilmente como una fusión en caliente.

Es esta gama de propiedades lo que ha llevado a que la demanda mundial anual de plásticos aumente, hasta ser hoy en día de 245 millones de toneladas con una tasa de crecimiento anual del 5%, este crecimiento proyectado se atribuye principalmente al aumento de la demanda pública de plásticos en todo el mundo (Andrady A & Neal M., 2009).

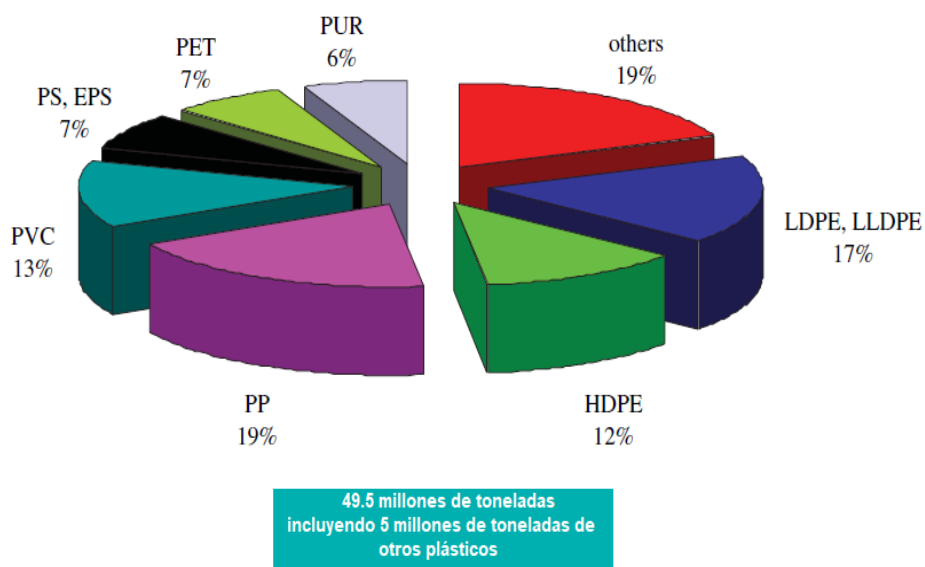
La enorme cantidad de material que, según la Asociación Europea de Productores Plásticos, llegó a los 300 millones de toneladas en el 2010 sobrepasa con mucho las capacidades de reciclamiento energético, químico o mecánico existentes en la actualidad por lo que ni siquiera Países Europeos han logrado tratar el 50% de sus residuos plásticos (Segura D et al., 2007).

Daniel Segura en el 2007, reportó que en México, el consumo anual de plásticos en el 2005 fue de 49 kg per cápita y que más de un millón de toneladas por año se convirtieron en desecho. Sin embargo, algunas de las propiedades, que son favorables desde el punto de vista de las aplicaciones que los plásticos pueden tener, han resultado inconvenientes para el manejo de los desechos que se generan con el uso creciente de estos materiales. La basura generada por las actividades

humanas hasta mediados del siglo XX consistía principalmente en desechos biodegradables o reciclables. Al incorporarse el plástico a la vida cotidiana, una parte considerable de los desechos producidos comenzó a acumularse en el ambiente, precisamente por la resistencia de los plásticos a la corrosión y a la intemperie (Brito G et al., 2011).

De igual manera, los plásticos son resistentes al ataque microbiano, ya que durante su corto tiempo de presencia en la naturaleza, los microorganismos no han evolucionado en la síntesis de nuevas estructuras enzimáticas capaces de degradar los polímeros sintéticos (Mueller R., 2006).

Aunque literalmente cientos de materiales plásticos están disponibles comercialmente, solo algunos de estos califican como termoplásticos básicos en términos de su alto volumen y precio relativamente bajo. Estos plásticos y su consumo fraccional a nivel mundial se muestran en la **Gráfica 1**. El polietileno de baja densidad (LDPE), el PE de alta densidad (HDPE), el polipropileno (PP), el PVC, el PS y el tereftalato de polietileno (PET) representan aproximadamente el 90 por ciento de la demanda total (Andrady A & Neal M., 2009).



Gráfica 1. Demanda mundial de materiales plásticos por tipos de resina 2006. (Andrady A & Neal M., 2009).

Los plásticos sintéticos se utilizan ampliamente en el envasado de diversos productos como alimentos, productos farmacéuticos, cosméticos, detergentes y productos químicos. Aproximadamente el 30 % de los plásticos se utilizan en todo el mundo en la fabricación de envases, expandiéndose a una tasa del 12 % anual. Los envases de plásticos sintéticos han reemplazado el papel y otros productos a base de celulosa para el envasado debido a que presentan mejores propiedades fisicoquímicas, tales como resistencia mecánica, ligereza, resistencia al agua y a la mayoría de los microorganismos que se encuentran en el ambiente. Debido a su durabilidad y visibilidad en la basura, los plásticos han atraído más atención pública y de los medios que cualquier otro componente del flujo de residuos sólidos.

El uso de plásticos ha desplazado a la madera y al vidrio de una gran cantidad de aplicaciones que incluyen la industria de la construcción, la alimenticia, la farmacéutica y la del transporte. Estos polímeros perduran en la naturaleza por largos períodos de tiempo y por tanto se acumulan, generando así grandes cantidades de residuos sólidos. Muchos de estos materiales pueden ser reciclados, sin embargo, este proceso produce grandes cantidades de sustancias tóxicas que afectan notablemente el medio ambiente (García A., 2015).

El espectacular aumento de la producción y la falta de biodegradabilidad de los polímeros comerciales, en particular los plásticos utilizados en envases (por ejemplo, comida rápida), la industria y la agricultura, centraron la atención del público en un problema de acumulación y contaminación ambiental potencialmente enorme que podría persistir durante siglos (Albertsson A et al., 1994). Los residuos plásticos se eliminan a través de vertederos, incineración y reciclaje. Debido a su persistencia en el medio ambiente, el impacto del plástico desechado tiene diversos efectos nocivos sobre la vida silvestre, los bosques, la población y generan un mal aspecto a la ciudad. Los materiales plásticos desechados incorrectamente son una fuente importante de contaminación ambiental, que puede dañar cualquier forma de vida. Además, la combustión de plásticos como el policloruro de vinilo (PVC) produce contaminantes conocidos como furanos y dioxinas que se caracterizan por

ser tóxicos y bioacumulables en el aire agua y suelo (Jayasekara R et al., 2005), estos se encuentran entre las sustancias más tóxicas y han sido clasificadas como cancerígenas por el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer de la Organización Mundial de la Salud. La exposición a estos productos químicos se asocia al déficit en la capacidad intelectual, el aumento de la prevalencia de la depresión y la introversión, déficit de atención y el incremento en la hiperactividad.

La degradación de los plásticos sintéticos es muy lenta, comparada con otro tipo de materiales, la descomposición de productos de desechos de tipo orgánicos tarda 3 o 4 semanas, las telas de algodón 5 meses, mientras que la del plástico puede tardar 500 años. Además, muchos de ellos no se degradan simplemente se fragmentan en partículas más pequeñas (de tamaño inferior a 5 milímetros), o en microplásticos las cuáles se acumulan en los diferentes ecosistemas generando un fuerte impacto ambiental.

En arena de playas y estuarios son muy abundantes los microfragmentos de acrílico, polipropileno, polietileno, poliamida (nylon), poliéster, polimetacrilato, etc. La presencia de estos plásticos en los mares es variable, existen reportes que indican acumulaciones de 3 a 5 kg/km² y hasta 30 kg/km², sin embargo, esas cantidades aumentan considerablemente cada año. En el norte del océano Pacífico se ha determinado que la cantidad de microplásticos se ha triplicado en la última década, y cerca de la costa de Japón la cantidad se multiplica por diez cada 2 o 3 años. La existencia de residuos plásticos en los mares es más que un problema estético, pues representa un peligro para los organismos marinos que sufren daños por ingestión y atragantamiento. Se calculan en cientos de miles las muertes de mamíferos marinos al año por esta causa (Segura D et al., 2007).

En aves se determinó que 82 de 144 especies estudiadas contenían fragmentos de plástico en sus estómagos y en algunas especies hasta el 80 % de los individuos los presentan. Además, se ha demostrado que los plásticos acumulan compuestos químicos que se caracterizan por ser tóxicos como los bifenilos policlorados, el

diclorodifenil dicloroetano y los nonifenoles, que no son muy solubles en agua y por esta razón se adhieren y se acumulan en los plásticos. Así, los fragmentos de plástico funcionan como transporte de contaminantes en los mares. Se ha demostrado que organismos marinos planctónicos, animales filtradores y aquellos que se alimentan de detritos, ingieren estos plásticos y en muchos casos éstos quedan atrapados en sus tejidos, aún no se ha dilucidado si de esta manera es posible que compuestos tóxicos contaminantes se bio-acumulen y entren en la cadena alimenticia, pero se piensa que es factible (Segura D et al., 2007).

Otra parte de la problemática consiste en que una gran cantidad de basura, incluyendo los plásticos, es desechada en barrancas, ríos, calles, etc. Algunas estimaciones hablan hasta de un 30 %. En México se estima que de los plásticos que son desechados se colecta únicamente el 12 %.

3.6. Rutas de degradación de los plásticos.

Los plásticos se degradan cuando ocurren cambios fisicoquímicos como resultado de factores ambientales, como la luz, el calor, la humedad o por la actividad biológica. Durante la degradación de los plásticos se producen cambios en las propiedades del material, tales como: mecánicas, ópticas o eléctricas, en el encrespamiento, agrietamiento, erosión, decoloración, separación de fases o deslaminación. Los cambios incluyen rompimiento de enlaces, transformaciones químicas y la formación de nuevos grupos funcionales (Pospisil J & Nespurek S., 1997). En la **Tabla 3** se muestran algunas rutas de degradación de los polímeros, tales como foto-degradación, termo-oxidativa y biodegradación.

Tabla 3. Rutas de degradación de los polímeros (Pospisil J & Nespurek S., 1997).			
Factores (requerimiento / actividad)	Foto-degradación	Degradación termo-oxidativa	Biodegradación
Agente activo	Radiación UV o de alta energía	Calor y oxígeno.	Agentes microbianos.
Requerimiento de calor	No requerido	Temperatura más alta que la temperatura ambiental requerida.	No requerido.
Tasa de degradación	La iniciación es lenta, pero la propagación es rápida.	Rápida.	Moderada.
Otra consideración	Ambiente amigable si es de alta energía.	Ambientalmente no aceptable.	Amigable con el medio ambiente.
Aceptación general	Aceptable pero costoso.	No aceptable.	Barato y muy aceptable.

La sensibilidad de los polímeros a la fotodegradación está relacionada con la capacidad de absorber la parte dañina de la radiación solar troposférica. Esto incluye la radiación terrestre UV-B (295– 315 nm) y la radiación UV-A (315–400 nm) responsables de la fotodegradación directa (fotólisis, fotooxidación iniciada). La parte visible de la luz solar (400–760 nm) acelera la degradación del polímero por calentamiento. La radiación infrarroja (760–2500 nm) acelera la oxidación térmica (Pospisil J & Nespurek S., 1997). La mayoría de los plásticos tienden a absorber la radiación de alta energía en la parte ultravioleta del espectro, lo que activa sus electrones a una mayor reactividad y causa oxidación, rompimiento y otra degradación.

La degradación térmica de los polímeros es "deterioro molecular como resultado del sobrecalentamiento". A altas temperaturas, los componentes de la cadena principal del polímero pueden comenzar a separarse (escisión molecular) y reaccionar entre sí para cambiar las propiedades del polímero. Las reacciones químicas involucradas

en la degradación térmica conducen a cambios en las propiedades físicas y ópticas en relación con las propiedades inicialmente especificadas. La degradación térmica generalmente implica cambios en el peso molecular (y la distribución del peso molecular) del polímero y los cambios de propiedad típicos incluyen; ductilidad y fragilidad reducidas, tiza, cambios de color, grietas y reducción general en la mayoría de las otras propiedades físicas deseables (Olayan H et al., 1996).

El proceso de oxo-biodegradación utiliza dos métodos para iniciar la biodegradación. Estos métodos son la fotodegradación (UV) y la oxidación. La degradación UV utiliza la luz UV para degradar el producto final. El proceso de oxidación usa tiempo y calor para romper el plástico. Ambos métodos reducen el peso molecular del plástico y le permiten biodegradarse.

La biodegradación es el proceso por el cual las sustancias orgánicas son degradadas por los organismos vivos. El material orgánico se puede degradar aeróbica o anaeróbicamente. Un término relacionado con la biodegradación es biomineralización, en el cual la materia orgánica se convierte en minerales. El dióxido de carbono y el agua se producen durante la biodegradación aeróbica y el dióxido de carbono, el agua y el metano se producen durante la biodegradación anaeróbica (Gu J et al., 2000). En general, la descomposición de los polímeros grandes en dióxido de carbono (mineralización) requiere varios organismos diferentes, uno de ellos descompone el polímero en sus monómeros constituyentes, uno capaz de usar los monómeros y excretar compuestos de desechos más simples como subproductos y otro capaz de usar los desechos excretados.

3.7. Alternativas contra la contaminación.

Una de las estrategias que se ha venido utilizando para deshacerse de los plásticos derivados del petróleo es la incineración, pero la quema de plásticos es altamente contaminante y causa efectos negativos en el ambiente, tales como el incremento de CO₂ en la atmósfera y la liberación de compuestos químicos muy peligrosos, como las dioxinas, el cloruro y el cianuro de hidrógeno.

3.7.1. Reciclamiento de plásticos.

Esta estrategia consiste en la recolección, acopio, reprocesamiento y remercadeo de productos plásticos que podrían ser considerados desecho. Algunos de los inconvenientes de esta alternativa son que para su reciclaje, los plásticos deben ser manejados adecuadamente, no sólo en su recolección y procesamiento, sino en la limpieza, selección y separación adecuada de los materiales a reciclar, y esto no se da en muchos casos. Además, los artículos plásticos no pueden ser reciclados indefinidamente, sólo se pueden reciclar tantas veces como lo permitan las condiciones físicas y químicas en las que queda el material después de su procesamiento. Adicionalmente, no todos los plásticos son reciclables. Los termoplásticos en general sí los son, mientras que los plásticos termoestables (aquellos que al ser moldeados sufren modificaciones irreversibles) no son reciclables.

Reportes emitidos por el INEGI en el 2015, indican que en México en el año 2010 se recolectaron en promedio 6,342,420 kg de plásticos/día, sin embargo, para el 2014 esta cantidad aumentó al 102,887,315 kg/día, es decir, en cuatro años el incremento fue de 19.16 %; mientras que en el 2018 la ONU reportó que, alrededor de 13 millones de toneladas de plástico son vertidos en los océanos cada año, afectando la biodiversidad, la economía y potencialmente afectando no solo la salud de los humanos, sino poniendo en riesgo la vida de todos los seres vivos ya que, los plásticos tardan cientos o miles de años en descomponerse en el medio ambiente, utilizar masivamente un material tan duradero para la fabricación de objetos desechables es un error con consecuencias catastróficas para el medio ambiente a nivel global.

En los últimos años, se ha centrado la atención en llevar a cabo investigaciones para reemplazar los plásticos de productos básicos a base de petróleo, con materiales biodegradables que ofrezcan propiedades mecánicas competitivas y que sean procesos rentables. Los biopolímeros han sido considerados como los materiales más prometedores para este propósito.

3.8. Biopolímeros.

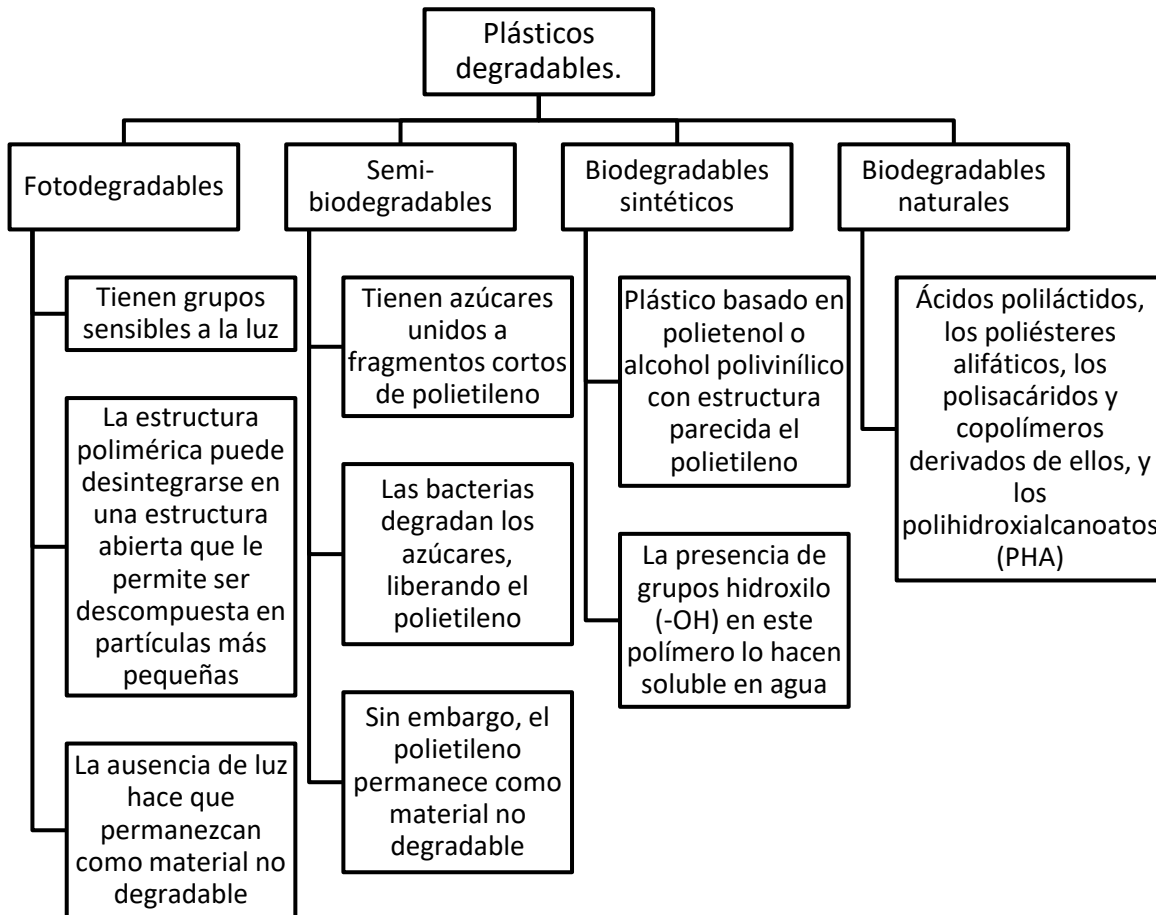
Los biopolímeros son macromoléculas presentes en los seres vivos. Una definición de los mismos los considera materiales poliméricos o macromoleculares sintetizados por organismos vivos (García A., 2015).

La ingeniería de tejidos una nueva disciplina médica define a los materiales sintéticos como biopolímeros con la particularidad de ser biocompatibles con los seres vivos, principalmente con los seres humanos (García A., 2015).

En la década de los 80's, los científicos investigaron si los plásticos podían rediseñarse para volverse susceptibles al ataque microbiano, haciéndolos degradables en un ambiente microbiano activo. Los plásticos biodegradables abrieron el camino para nuevas consideraciones de estrategias de manejo de desechos ya que estos materiales están diseñados para degradarse en condiciones ambientales o en instalaciones de tratamiento de desechos biológicos municipales e industriales (Witt U et al., 1997).

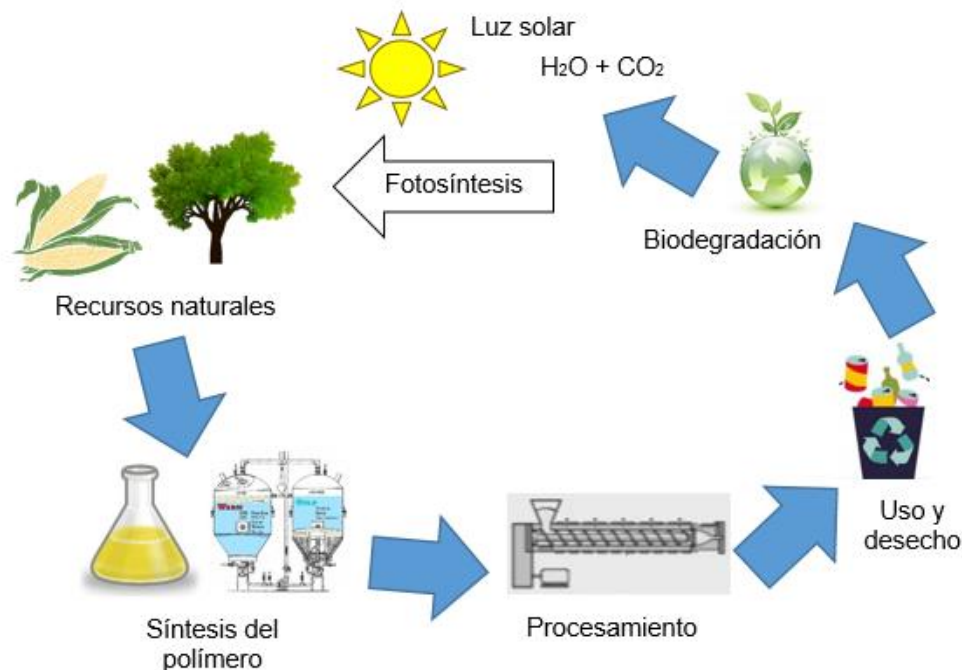
De acuerdo a la definición de la American Society for Testing and Materials (ASTM), el plástico biodegradable es aquel cuya degradación resulta de la acción de microorganismos presentes en el ambiente.

Se han desarrollado cuatro tipos de plásticos degradables: los fotodegradables, los semi-biodegradables, los biodegradables sintéticos y los completamente biodegradables naturales. Las características de cada uno de ellos se muestran en el **Esquema 2**.



Esquema 2. Clasificación de los plásticos degradables (Segura D et al., 2007).

La problemática generada por el uso indiscriminado de plásticos sintéticos y su persistencia en el ambiente ha estimulado la investigación para el desarrollo de nuevos materiales y métodos de producción que permitan generar bioplásticos que presenten las mismas propiedades pero que tengan un periodo de degradación más corto. Los polímeros provenientes de recursos renovables se biodegradan siguiendo el ciclo de vida que se muestra en el **Esquema 3**.



Esquema 3. Ciclo de vida de los polímeros biodegradables provenientes de fuentes renovables (Brito G et al., 2011).

Los polímeros biodegradables amplían la gama de opciones de tratamiento de gestión de residuos sobre los plásticos tradicionales, esto es respaldado por la evaluación del ciclo de vida. Las opciones de eliminación de final de vida más favorecidas para estos materiales son el compostaje doméstico y municipal en lugar del vertedero, que es la peor opción de eliminación. Por lo tanto, los polímeros biodegradables pueden hacer contribuciones significativas a la recuperación de materiales, la reducción de los vertederos y la utilización de recursos renovables (Mostafa N et al., 2018).

Microorganismos tales como bacterias y hongos están involucrados en la degradación de los plásticos naturales y sintéticos (Gu J et al., 2000). La biodegradación de los plásticos se realiza activamente en diferentes condiciones del suelo según sus propiedades, porque los microorganismos responsables de la degradación difieren entre sí y tienen sus propias condiciones óptimas de

crecimiento en el suelo. Los polímeros, especialmente los plásticos, son sustratos potenciales para microorganismos heterótrofos (Glass J & Swift G., 1989).

La biodegradación se rige por diferentes factores que incluyen las características del polímero, el tipo de organismo y la naturaleza del tratamiento previo. Las características del polímero, como su movilidad, táctica, cristalinidad, peso molecular, el tipo de grupos funcionales y sustituyentes presentes en su estructura, y los plastificantes o aditivos agregados al polímero, juegan un papel importante en su degradación (Artham T & Doble M, 2008).

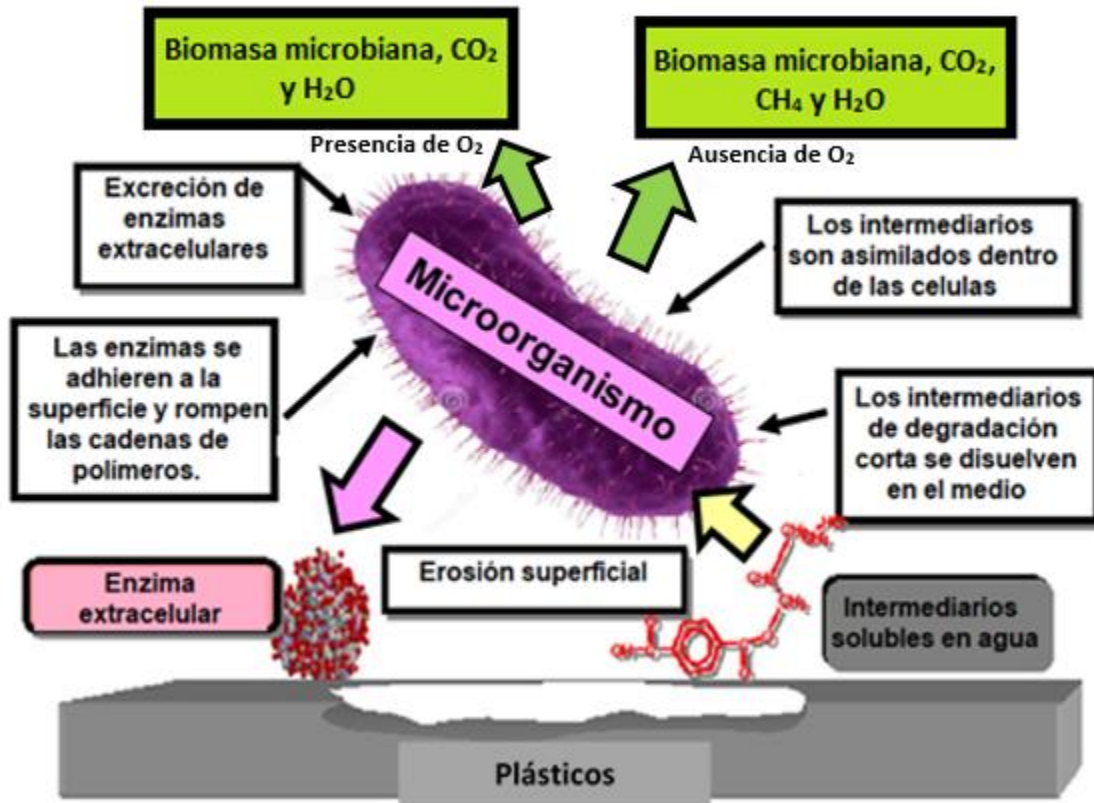
Durante la degradación, el polímero se convierte primero en sus monómeros, luego estos monómeros se mineralizan. La mayoría de los polímeros son demasiado grandes para pasar a través de las membranas celulares, por lo que primero deben ser despolimerizados a monómeros (moléculas más pequeñas) antes de que puedan ser absorbidos y biodegradados dentro de las células microbianas. El polímero es degradado usando primero una enzima llamada despolimerasa, que lo rompe liberando los monómeros, que son moléculas que las bacterias pueden asimilar en su metabolismo. La descomposición inicial de un polímero puede resultar de una variedad de fuerzas físicas y biológicas (Swift G, 1997).

Las fuerzas físicas, como el calentamiento-enfriamiento, la congelación-descongelación o el humedecimiento-secado, pueden causar daños mecánicos como el agrietamiento de materiales poliméricos (Kamal M & Huang B., 1992). El crecimiento de muchos hongos puede causar hinchamiento y estallido a pequeña escala, a medida que los hongos penetran en los sólidos del polímero (Griffin G., 1980). La hidrólisis abiótica es la reacción más importante para iniciar la degradación ambiental de polímeros sintéticos (Göpferich A., 1997).

En general, un aumento en el peso molecular da como resultado una disminución de la degradabilidad del polímero por parte de los microorganismos. En contraste, los monómeros, dímeros y oligómeros de las unidades repetitivas de un polímero

se degradan y mineralizan con mucha facilidad. Los pesos moleculares altos dan como resultado una disminución brusca de la solubilidad, lo que los hace desfavorables para el ataque microbiano porque las bacterias requieren que el sustrato se asimile a través de la membrana celular y luego se degrade por las enzimas celulares. Al menos dos categorías de enzimas participan activamente en la degradación biológica de los polímeros: las despolimerasas extracelulares e intracelulares (Gu J et al., 2000). Durante la degradación, las exoenzimas de los microorganismos descomponen polímeros complejos que producen moléculas más pequeñas de cadenas cortas, por ejemplo, oligómeros, dímeros y monómeros, que son lo suficientemente pequeños para atravesar las membranas bacterianas externas semipermeables y luego se utilizan como fuentes de carbono y energía. El proceso se llama despolimerización. Cuando los productos finales son CO_2 , H_2O o CH_4 , la degradación se llama mineralización (Hamilton J et al., 1995). Es importante considerar que el biodeterioro y la degradación del sustrato de polímero rara vez pueden alcanzar el 100 % y la razón es que una pequeña porción del polímero se incorporará a la biomasa microbiana, el humus y otros productos naturales (Atlas R & Bartha R., 1997).

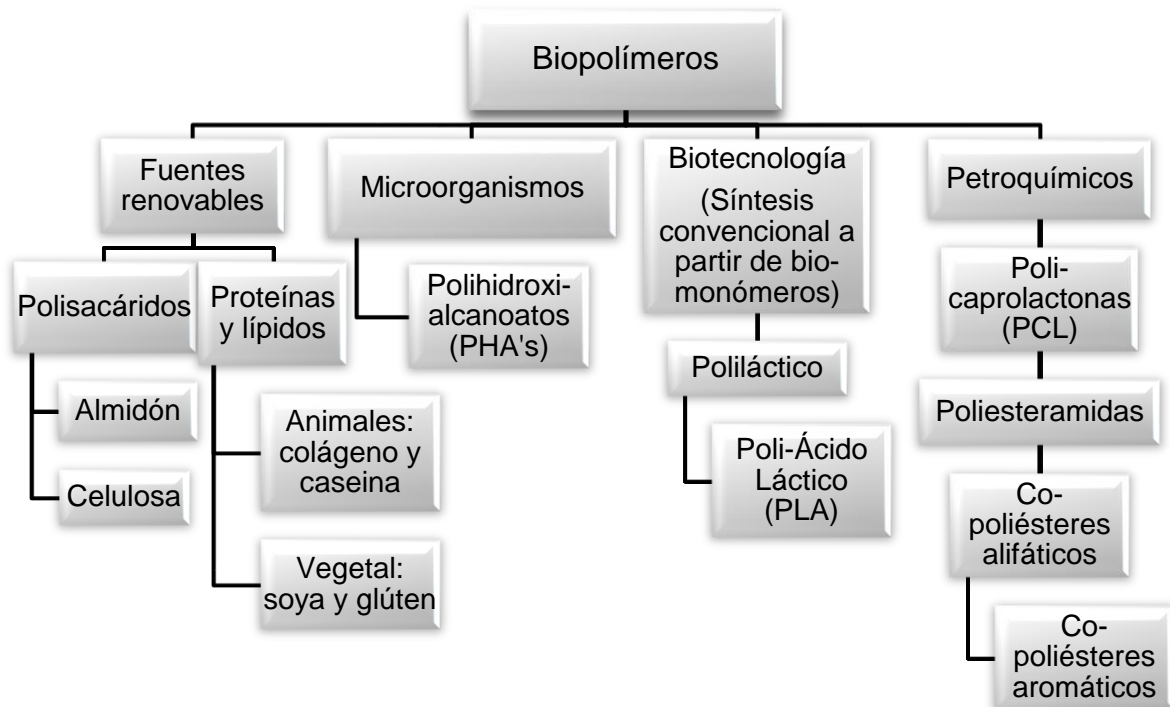
Los grupos dominantes de microorganismos y las vías de degradación asociadas con la degradación del polímero a menudo están determinadas por las condiciones ambientales. Cuando se dispone de O_2 , los microorganismos aeróbicos son los principales responsables de la destrucción de materiales complejos, obteniendo biomasa microbiana, CO_2 y H_2O como productos finales (**Esquema 4**). Mientras que, en condiciones anóxicas o anaerobias, los productos primarios serán biomasa microbiana, CO_2 , CH_4 y H_2O , por ejemplo: vertederos/composta (Barlaz M et al., 1989).



Esquema 4. Mecanismo general de biodegradación de los plásticos (Shah A et al., 2008).

3.9. Fuentes de obtención y clasificación de los biopolímeros.

Los biopolímeros pueden clasificarse en cuatro categorías, según la fuente de obtención: de fuentes renovables, de microorganismos, síntesis convencional a partir de biomonómeros y de petroquímicos. En el **Esquema 5** se muestran algunos ejemplos de cada uno de ellos.



Esquema 5. Clasificación de algunos biopolímeros de acuerdo a la fuente de obtención (Brito G et al., 2011).

3.10. Microorganismos productores de biopolímeros.

Actualmente se producen biopolímeros a partir de bacterias y hongos, principalmente producidos por fermentación (bioplásticos), llamados de manera genérica polihidroxi-alcanoatos (PHA), y particularmente el polihidroxibutirato (PHB) y el poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) (P(3HB-co-3HV)), que se producen a escala comercial.

Hasta el momento, se conocen aproximadamente 300 especies bacterianas productoras de PHAs (polihidroxi-alcanoatos), incluyendo Gram negativas y Gram positivas, pero solo algunas se utilizan a nivel industrial, dadas sus altas eficiencias en la transformación de los sustratos y concentración final del biopolímero en sus células (Sánchez M et al., 2012).

En la **Tabla 4** se presentan los principales microorganismos productores de biopolímero, el tipo de biopolímero que producen y el rendimiento (%) reportado en la literatura.

Tabla 4. Principales microorganismos productores de biopolímeros (Lemos A & Mina A., 2015).		
Microorganismo	Tipo de biopolímero	Rendimiento reportado (%)
<i>Alcaligenes latus</i>	PHB	88
<i>Azotobacter beijerinckii</i>	P3HB	70.4
<i>Azotobacter vinelandii</i>	P3HB	66-85
<i>Bacillus cereus</i>	P3HB	66.6
<i>Bacillus megaterium</i>	PHB	20
<i>Caulobacter crescentus</i>	PHA	18
<i>Cupriavidus necator</i>	PHB	46-85
<i>Escherichia coli</i> recombinante	PHB	73
<i>Klebsiella aerogenes</i> recombinante	PHB	65
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PHA	20-30
<i>Pseudomonas oleovorans</i>	PHB	30-38
<i>Pseudomonas putida</i>	PHA	37
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	P3HB	95
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	PHB	10-60
<i>Sphaerotilus natans</i>	PHB	10

Los PHA son acumulados como polímeros líquidos, móviles y amorfos en forma de gránulos que se alojan en el citoplasma de los microorganismos, rodeados de una monocapa de fosfolípidos que contiene enzimas polimerasas y despolimerasas (**Figura 10**). Estas bacterias sintetizan los PHA como compuestos de almacenamiento de fuentes de carbono y energía y probablemente cumplen con otras funciones en la célula bacteriana.

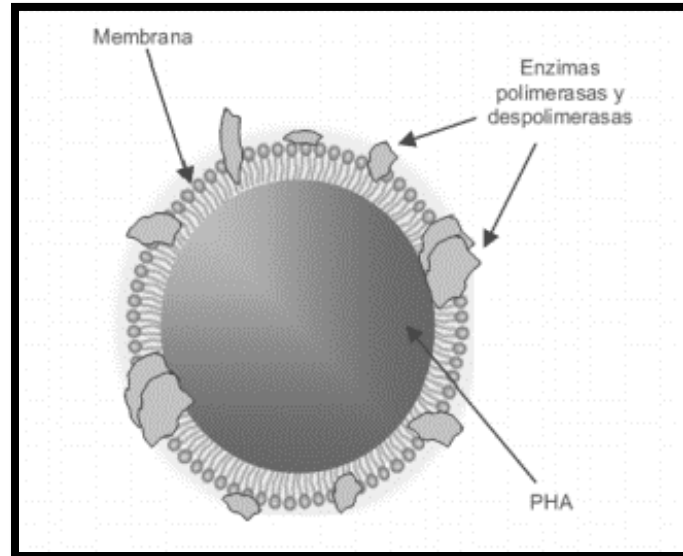
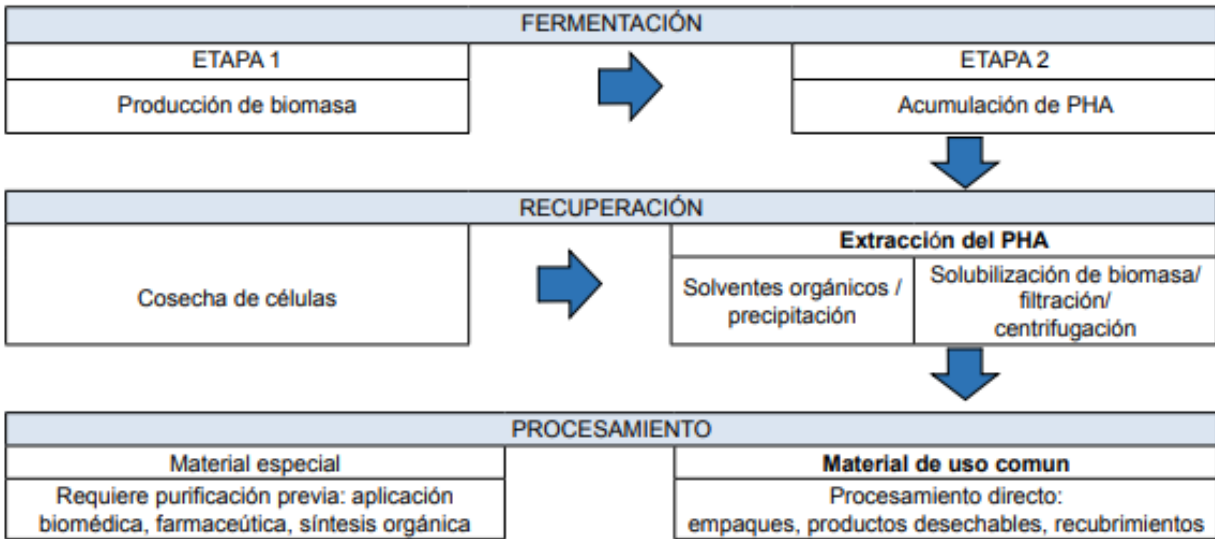


Figura 10. Esquema del gránulo de PHA acumulado intracelularmente (Lemos A & Mina A., 2015).

Investigaciones previas realizadas sobre los procesos de producción y acumulación de los PHA indican que el número de gránulos por célula se definen en las primeras etapas del proceso y que la producción del polímero cesa cuando el contenido de acumulación alcanza entre el 80-90 % del peso celular en base seca de la bacteria. Este fenómeno ha llevado a la conclusión de que existen restricciones físicas que impiden a la célula acumular más polímero, a pesar de la disponibilidad de sustrato y actividad de la enzima PHA polimerasa (Lemos A & Mina A., 2015). En el **Esquema 6** se presenta el diagrama general de producción de PHA's con las características principales de cada proceso.



Esquema 6. Diagrama general de producción de PHA's (Malagón M et al., 2017).

Por otro lado, una de las áreas de investigación más interesantes, peculiar y que además, ya tiene una apuesta sólida con un novedoso material, hace uso de los hongos. Investigadores, como el Dr. Han Wösten de la Universidad de Utrecht (Países Bajos), tratan de aprovechar la estructura micelar de los hongos para producir materiales con propiedades similares a los plásticos sintéticos convencionales. Así mismo, se utilizan sustratos de fácil degradación para el microorganismo. Además, el micelio funciona como “pegamento” que, dependiendo de las condiciones de crecimiento, puede permitir la creación de múltiples materiales con propiedades distintas (por ejemplo, materiales que pueden proporcionar aislamiento, resistir impactos u oponer resistencia a la humedad). Estos nuevos materiales, creados mediante el uso de hongos y materiales naturales, son 100 % biodegradables. Además, su producción, a diferencia de los plásticos, no presenta una dependencia completa del petróleo porque son materiales que se “cultivan”. Por lo tanto, esta innovación puede suponer una atractiva alternativa frente al uso de los plásticos convencionales, ofreciendo al mercado polímeros naturales.

3.11. Generalidades de *Acrostalagmus luteoalbus*.

Acrostalagmus luteoalbus es una especie fúngica descrita por primera vez por Heinrich Friedrich Link, y Zare, W. Gams y Schroers le dieron su nombre actual en 2004. *Acrostalagmus luteoalbus* es parte del género *Acrostalagmus* y la familia *Hypocreaceae*, es una especie frecuente tanto en el suelo como en restos vegetales en descomposición.

Los hongos saprófitos tales como *Acrostalagmus luteoalbus* actúan como organismos degradadores de materia orgánica, ya que participan en los procesos de ciclado de nutrientes reduciéndolos a componentes más simples y de fácil asimilación por otros organismos, mejoran la estructura del suelo y remueven materiales que de otra manera se acumularían al punto de disminuir la productividad del ecosistema y son responsables de la nutrición mineral adecuada de la mayoría de las plantas. Estos hongos tienen un enorme potencial de dispersión y un sistema enzimático eficiente que les garantiza su modo de vida (Allegrucci N et al., 2007).

En la **Figura 11** se muestra el crecimiento macroscópico del microorganismo, mientras que en la **Figura 12** se observa la estructura microscópica del mismo.

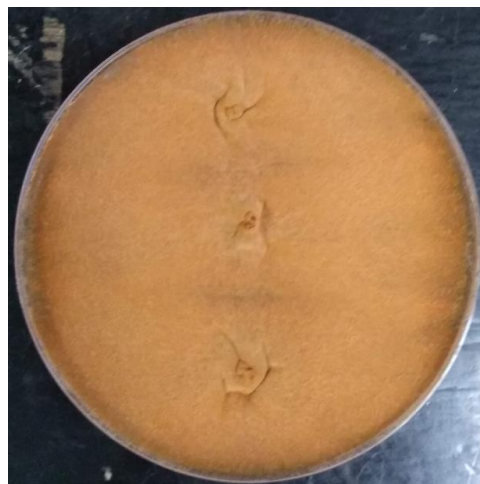


Figura 11. Crecimiento macroscópico de *Acrostalagmus luteoalbus*

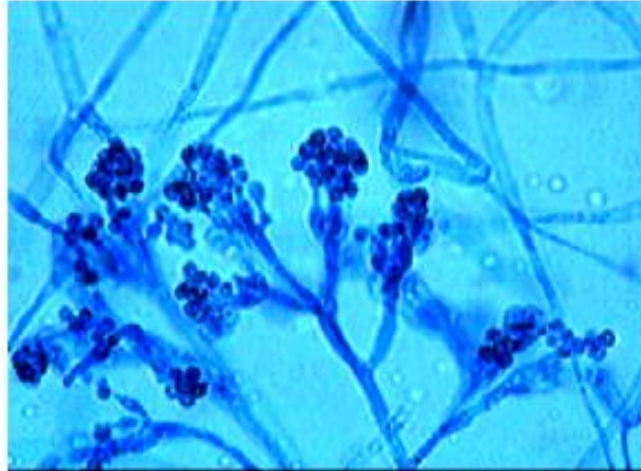


Figura 12. Estructura microscópica de *Acrostalagmus luteoalbus*.
Departamento de Botánica de la Universidad de Toronto.

Cabe resaltar que actualmente, no existen datos reportados en la literatura que indiquen que este microorganismo sea un hongo productor de biopolímeros.

3.12. Sustratos utilizados para la producción de biopolímeros.

El tipo de polímero producido depende fundamentalmente de la cepa bacteriana utilizada, la fase de crecimiento microbiana y del sustrato o mezcla de sustratos suministrados a las células para su crecimiento.

Existen diversos sustratos que por su naturaleza de desechos, podrían incidir favorablemente en los costos de producción de los biopolímeros. Entre los sustratos económicos más usados se encuentran: la melaza de caña, residuos de la industria del arroz y los lactosueros. Otras fuentes de carbono frecuentes son los ácidos grasos volátiles (acético, butírico y propiónico), obtenidos de la degradación de algunos desechos orgánicos lipídicos, pero que deben utilizarse en bajas concentraciones, debido a su toxicidad celular (Valero-Valdivieso M et al., 2013).

3.13. Generalidades de los sustratos utilizados.

Las actividades agropecuarias y agroindustriales dan origen a una serie muy amplia de esquilmos y subproductos derivados en su mayor parte de cereales (SAGARPA,

2015), los que generan contaminación al disponer de ellos de manera irresponsable, además de carecer de procesos establecidos que permitan su empleo para obtener productos de valor agregado. Estos residuos vegetales están constituidos principalmente por biomasa lignocelulósica, siendo los polímeros de celulosa y hemicelulosa los que se encuentran en mayor cantidad, los cuales pueden ser degradados por diversos microorganismos.

Diversos procesos industriales están en desarrollo para emplear estos residuos en la generación de productos con valor agregado, como el etanol, proteína celular y enzimas. Estos bioprocesos han sido efectivos en el uso de sustratos alternativos, ya que pueden reducir los problemas de contaminación causados por estos desperdicios.

La obtención de residuos agroindustriales se lleva a cabo en todo el proceso productivo, estos residuos presentan un problema ambiental, por lo que se ha sugerido mediante el uso de herramientas biotecnológicas que podrían ser aprovechados y a su vez éstos presentarían un potencial de valorización en la industria como aditivos en los procesos de producción incluso en el desarrollo e innovación de nuevos productos (Barragán H et al., 2008).

La industria alimentaria genera grandes volúmenes de residuos sólidos orgánicos, que están infrautilizados o se descartan, y si ellos no son reciclados o procesados apropiadamente, generan diversos problemas ambientales (Barragán H et al, 2008), por lo que cada vez se hace más imperiosa la necesidad de caracterizar y evaluar la reutilización de estos subproductos o desechos (Neuza J et al., 2016).

En México la generación anual per cápita se estima en 327.3 kg, es decir, 42.28 billones de residuos sólidos orgánicos, de los cuales sólo el 7 % se aprovechan para usos industriales o compostajes (Comisión para la Cooperación Ambiental, CCA., 2017). Dentro de los desechos de tipo orgánico que pueden ser usados como fuente

de carbono en la formulación de medios de cultivo podemos citar: olote, cáscara de naranja, cáscara de tuna, fruta de tejocote y cáscara de plátano.

3.13.1. Olote.

El residuo del desgranado del maíz se conoce como olote de maíz, un tejido esponjoso y blanco que representa la médula donde se almacenan las reservas alimenticias del cereal (**Figura 13**). Está compuesto en base seca por celulosa (45 %), hemicelulosa (35 %) y lignina (15 %), de los cuales la hemicelulosa se compone mayoritariamente por xilano de olote (28-35 % base seca) uno de los heteroxilanos complejos que contiene residuos de xilosa con enlaces β -1,4 (Saha B & Bothast R., 1999). El xilano de olote de maíz se compone principalmente de xilosa (48-54 %), arabinosa (33-35 %), galactosa (5-11 %) y ácido glucurónico (3-6 %) (Saha B., 2003). Estas características le confieren al olote la posibilidad de ser empleado como sustrato en la producción de la enzima xilanasa.



Figura 13. Olote de maíz.

En México, debido a su amplia producción agrícola con cifras que rebasan los 35 millones de toneladas anuales, el cultivo del maíz es el que más contribuye a este tipo de contaminación por medio del olote, un subproducto derivado del desgranado mecánico de este y que genera residuos por encima de los 25 millones de toneladas

(SAGARPA, 2015). El olote, ampliamente rico en xilano (28-35 % base seca) (Saha B., 2003), se desecha de diversas maneras, por esparcimiento sobre la tierra, por incineración al aire libre o mezclado con otros compuestos en la alimentación ganadera como forraje, generando ganancias muy bajas o nulas (SAGARPA, 2015).

Por su alta concentración de xilano, el olote de maíz se ha empleado como sustrato en fermentaciones en medios líquidos, para la producción de enzimas degradadoras de hemicelulosa y otros procesos de valor agregado (Gupta U & Kar R., 2008), pero se requiere de más información para el empleo de olote de maíz como sustrato-soporte en fermentación en estado sólido con la finalidad de producir metabolitos de interés.

Actualmente en México el olote se emplea como forraje y soporte para disminuir la erosión en la tierra, ambos procesos con bajos rendimientos y poco redituables, de otra manera, los residuos del maíz son incinerados o esparcidos en la intemperie, generando contaminación ambiental.

El xilano (**Figura 14**) representa la hemicelulosa más abundante de la pared vegetal, siendo un heteropolisacárido con cadenas homopoliméricas centrales β -1,4-ligadas a residuos de D-xilopiranosas, que, dependiendo de su origen, también puede presentar residuos de arabinosa, ácido glucurónico y ácido arabino-glucurónico (Gupta U & Kar R., 2008).

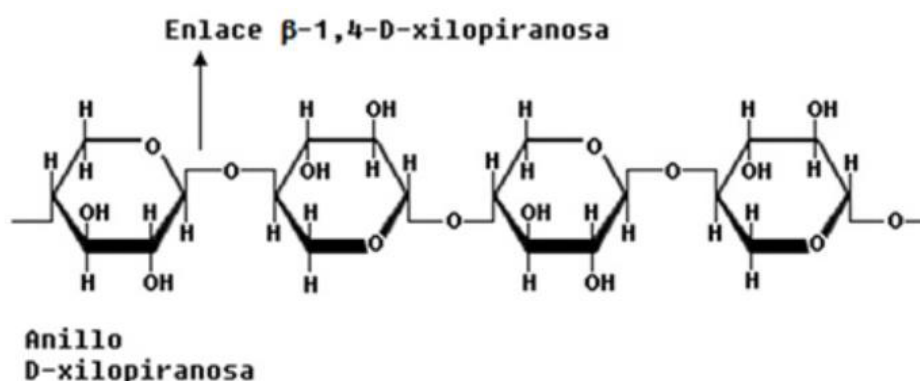


Figura 14. Estructura del xilano.

En las plantas, el xilano o las hemicelulosas, están situados entre la lignina y debajo de la colección de fibras de celulosa (**Figura 15**). Congruente a su estructura química y las sustituciones de grupos laterales, el xilano se encuentra entrelazado, intercalado y enlazado covalentemente a varios puntos de vainas de lignina, mientras producen una capa alrededor de los hilos de celulosa mediante puentes de hidrógeno (Beg Q et al., 2001).

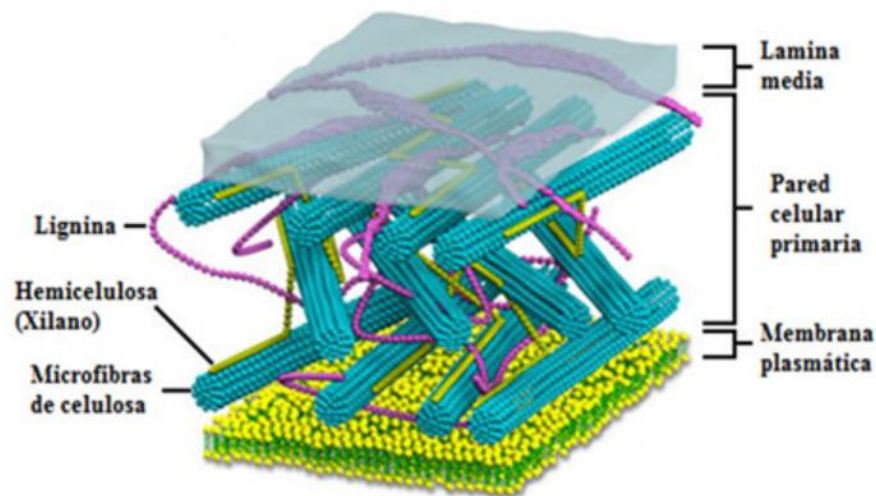


Figura 15. Imagen representativa de la pared celular de una planta (Robledo A et al., 2012).

3.13.2. Cáscara de naranja.

Uno de los principales residuos lo constituyen la cáscara de los cítricos (**Figura 16**), importante desecho de la elaboración de jugos que puede ser una excelente fuente de carbono para el crecimiento microbiano y poligalacturonasa simultánea (PG) y la producción de xilanas (Mamma D et al., 2008) En la **Tabla 5** se muestra su composición nutricional.



Figura 16. Cáscara de naranja.

Tabla 5. Composición nutrimental de la cáscara de naranja (Arroyo A., 2002).

Componentes principales (%)	Materia seca	90.00
	Proteína	6.00
	Carbohidratos (celulosa)	62.70
	Grasas	3.40
	Fibra	13.00
	Cenizas	6.90
Minerales (%)	Calcio	2.00
	Magnesio	0.16
	Fósforo	0.10
	Potasio	0.62
	Azufre	0.06
Vitaminas (mg/kg)	Colina	770.00
	Niacina	22.00
	Ac. Pantoténico	14.96
	Riboflavina	22.20
Aminoácidos (%)	Arginina	0.28
	Cistina	0.11
	Lisina	0.20
	Metionina	0.11
	Triptófano	0.06

3.13.3. Cáscara de tuna.

La tuna (**Figura 17**) es una baya ovalada con un gran contenido de semillas y de cáscara semidura con espinas. La tuna es la fruta del nopal (*Opuntia spp.*), el cual es nativo de América y propio de las regiones áridas y semiáridas del mundo. En México se reconocen alrededor de 23 variedades de tunas comestibles, agrupando a las tunas blancas, púrpuras, rojas, anaranjadas y amarillas. Las tunas de pulpa blanca y cáscara verde son las de mayor consumo, su producción en el ámbito nacional corresponde a casi el 95 % de la producción total. La producción de tuna en nuestro país registra actualmente un volumen superior a las 400,000 toneladas.



Figura 17. Cáscara de tuna.

En nuestro país los desechos o subproductos agrícolas (cáscaras, bagazos, frutas, vegetales y hortalizas dañadas o en estado de descomposición) representan un grave problema ambiental ya que no se cuenta con políticas adecuadas para su manejo. Dichos subproductos son generados en grandes volúmenes y solo una mínima parte es reutilizada en la producción de forrajes.

Si se considera que la pulpa de la tuna constituye entre el 30 y 40 % del total en peso y el resto corresponde a la cáscara, esta última podría ser utilizada como una

fuentes de carbono de residuos orgánicos de diversos productos. Un estudio reciente sobre la caracterización de la cáscara de la tuna de *Opuntia ficusindica* reportó que ésta contiene ácidos grasos poliinsaturados, antioxidantes naturales como la vitamina E, tocoferoles, vitamina C y como fuentes de carbono: arabinosa, galactosa, lactosa, ramnosa, xilosa y ácido galacturónico. Por lo que, la cáscara de tuna puede constituir una interesante fuente de fitoquímicos, los cuales pueden ser extraídos y potencialmente usados en la preparación de productos de alto valor agregado (Cerezal P & Duarte G., 2005).

3.13.4. Fruto de tejocote sin semilla.

El fruto del tejocote (**Figura 18**) ha sido empleado tradicionalmente en México desde tiempos prehispánicos y actualmente su cultivo, que es considerado de importancia económica menor, se encuentra distribuido principalmente en los estados de México, Puebla, Tlaxcala, Chiapas, Michoacán, Hidalgo y Morelos. El Estado de México es uno de los tres principales productores de tejocote a nivel nacional, con una producción de 6 ton/ha y 30 ha de producción reportadas, es decir, 130 ton al año; en este estado, existe una vasta región con zonas templadas, las cuales han sido sugeridas como reserva de amplia variabilidad genética para el género *Crataegus*.

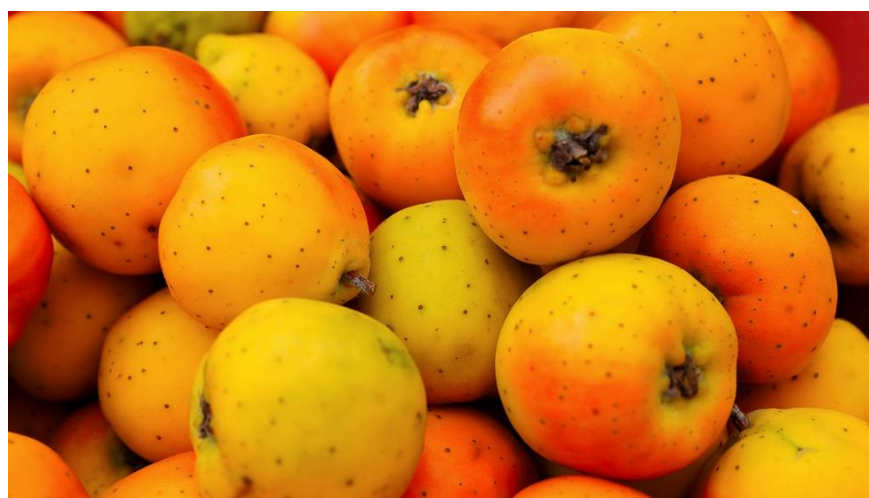


Figura 18. Fruto de tejocote.

El tejocote es un fruto rico en vitamina C, carotenos y sales minerales, entre ellas el calcio, fósforo, hierro, y presenta un alto contenido de pectina, la cual se descompone en ácido galacturónico.

3.13.5. Cáscara de plátano.

El plátano tiene su origen en Asia meridional, siendo conocido en el Mediterráneo desde el año 650 D.C. La especie llegó a Canarias en el siglo XV y desde allí fue llevado a América en el año 1516. Su cultivo se ha extendido a muchas regiones de Centroamérica y Sudamérica, así como de África subtropical; constituyendo la base de la alimentación de muchas regiones tropicales. El plátano es el cuarto cultivo de frutas más importantes del mundo.

La cáscara de plátano (**Figura 19**) es rica en taninos, fibra (13 % expresado en base seca (BS)) y 14.6 % de azúcares en BS provenientes de la hidrólisis enzimática del almidón (90 % se transforma en azúcares aproximadamente a los 12 días después de su cosecha) (Gracia P., 2019).



Figura 19. Cáscara de plátano.

3.14. Caracterización de polímeros y biopolímeros.

La caracterización de un polímero requiere especificar varios parámetros ya que una muestra polimérica presenta una distribución estadística de cadenas de variada longitud. Además, si la morfología de las cadenas permite la formación de estructuras cristalinas entonces habrá que determinar su forma y tamaño, así como la fracción amorfa que remane en la muestra. (Hermida É., 2011).

El motivo principal para la determinación de la estructura de los polímeros es para relacionarla con el funcionamiento y sus propiedades. Ya que si se caracteriza completamente un polímero y sus propiedades son conocidas, es posible optimizar y controlar el proceso de polimerización para obtener mejores propiedades fisicoquímicas (Seidel A., 2008).

En la **Tabla 6**, se muestran los diferentes métodos y técnicas de evaluación de parámetros para la caracterización macromolecular, mientras que en el **Anexo 1** se presenta el resumen de estos.

Tabla 6. Técnicas de evaluación de parámetros para la caracterización macromolecular (Ávila A., 2017).	
Parámetro	Técnica
Composición química y microestructura	<ul style="list-style-type: none">• Análisis elemental• Resonancia Magnética Nuclear de alta resolución• Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier• Cromatografía de gases
Peso molecular y su distribución	<ul style="list-style-type: none">• Osmometría de membrana• Dispersión de la luz• Ultracentrifugación• Viscosimetría de soluciones• Cromatografía de permeación en gel• Ebulloscopía y crioscopía

Orden en estado sólido y estructura	<ul style="list-style-type: none"> • Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) • Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) • Difracción de rayos X
Comportamiento térmico	<ul style="list-style-type: none"> • Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) • Análisis Termogravimétrico (TGA) • Análisis Termomecánico (TMA) • Análisis Dinamicomecánico

3.15. Procesamiento de biopolímeros.

En la **Tabla 7** se enlistan los principales métodos de procesamiento para polímeros y biopolímeros, sin embargo, en el presente trabajo solo nos enfocaremos a la producción de biopolímeros, la descripción de cómo se procesan se presenta en el **Anexo 2**, cabe resaltar que los polímeros biodegradables pueden procesarse por diversos métodos, no obstante, depende de la base del biopolímero, en la **Tabla 8** se muestra la técnica de procesado que se puede utilizar para cada biopolímero a partir de diferentes fuentes renovables.

Tabla 7. Principales métodos de procesamiento (AIMPLAS, 2011).	
Polímero	Biopolímeros
<ul style="list-style-type: none"> • Extrusión • Moldeo por soplado • Moldeo por inyección • Termoconformado • Calandrado • Hilado de fibras • Moldeo por compresión • Moldeo por transferencia • Colado 	<ul style="list-style-type: none"> • Extrusión en lámina • Extrusión por soplado • Moldeo por inyección • Termoconformado • Hilado de fibras

Tabla 8. Procesado de biodegradables (AIMPLAS, 2011).					
	Inyección	Extrusión Soplado	Extrusión Lámina	Hilado Fibras	Termo- conformado
Almidón	X	X	X		X
Celulosa	X	X	X		X
PHB	X	X	X		X
PLA	X		X	X	X
PBS/PBSA	X	X			
PCL	X	X		X	
PBAT		X			
PVOH	X		X	X	X

3.16. Ventajas y desventajas de los biopolímeros comparados con los polímeros.

3.16.1. Ventajas.

Los polímeros sintéticos están siendo reemplazados gradualmente por materiales biodegradables, especialmente los derivados de los residuos orgánicos naturales, debido a su biodegradabilidad. Las innovaciones recientes en películas de polímeros comestibles y/o biodegradables son temas importantes de investigación, por las mejoras que presentan en el envasado de alimentos, cirugía, usos farmacéuticos, etc.

Una diferencia importante entre los plásticos obtenidos a partir de polímeros naturales y los de origen sintético es su degradabilidad. Los plásticos naturales, debido a que son producidos por seres vivos mediante reacciones enzimáticas, también son susceptibles de degradación por sistemas biológicos, ya que han estado presentes en el ambiente desde hace mucho tiempo, y así como han evolucionado organismos capaces de producirlos, también lo han hecho organismos con capacidad para aprovecharlos degradándolos para obtener energía y nutrientes. De hecho, las mismas bacterias que los producen como reserva de alimento, deben ser capaces de degradarlos eventualmente para utilizarlos, o la

capacidad de sintetizarlos como material de reserva no hubiera evolucionado (Segura D et al., 2007).

Los plásticos biodegradables ofrecen una serie de ventajas cuando se comparan con los plásticos convencionales. Estos son completamente degradados en compuestos que no dañan el medio ambiente: agua, dióxido de carbono y humus. Su posible procedencia a partir de materias primas renovables, ayuda a reducir el alto grado de dependencia de los compuestos de origen fósil, donde para la producción de los materiales plásticos comunes, se usan grandes reservas energéticas no renovables que el planeta posee (petróleo), contribuyendo al aumento de los gases de efecto invernadero. Actualmente la población está creando conciencia sobre el uso indiscriminado de los plásticos convencionales (sobre todo los de un solo uso) y trata de sustituirlos por los plásticos biodegradables, contribuyendo en la mejora al medio ambiente, ya que durante su degradación no liberan compuestos tóxicos.

La importancia de los biopolímeros radica en que además poseen una amplia gama de aplicaciones y ventajas en la elaboración de los envases y usos biomédicos (Pérez L., 2010). En el **Esquema 7** se muestran las ventajas que presenta el uso de biopolímeros.



Esquema 7. Ventajas que presenta el uso de biopolímeros.

3.16.2. Desventajas.

Hay claras desventajas de utilizar los biopolímeros en la vida diaria. Primero, las investigaciones sobre los biopolímeros siguen en proceso, aunque se han tenido grandes avances hasta el momento, se deben seguir desarrollando para encontrar un equilibrio con la naturaleza y no agravar más la contaminación en el planeta. Así mismo se requiere de investigaciones para mejorar el rendimiento y productividad, ya que a la fecha estos son bajos y poco rentables.

Hoy en día los combustibles fósiles se utilizan como una fuente de energía durante el proceso de producción de plásticos y bioplásticos. Esto ha suscitado dudas respecto a que si el uso de combustibles fósiles disminuirá por la fabricación de bioplásticos, debido a que sus procesos de producción utilizan menos energía. Por lo tanto, los investigadores todavía están trabajando en el perfeccionamiento de los procesos utilizados para hacer bioplásticos como alternativas viables que sustituyan a los plásticos petroquímicos.

Debido a su baja compatibilidad con las resinas actuales, a su inestabilidad frente al agua, a sus malas propiedades mecánicas, así como a su complejidad de producción no son una opción atractiva en el mercado, ya que el costo de producir una bolsa hecha con biopolímeros cuesta entre tres y cuatro veces más que una de las actuales.

Por otra parte, estudios recientes demuestran que en ninguno de los escenarios de previsión de futuro, en términos de eficiencia en la fabricación de resina y rendimiento del material, el material biodegradable supera al polietileno en los usos generales de bolsas de basura. Con el propósito de obtener diferentes comportamientos de vida útil y de servicio de los bioplásticos, se necesitaría sintetizar una resina diferente para cada producto. (Pérez L. A., 2010)

A pesar de las evidentes ventajas de los biopolímeros frente a los plásticos derivados del petróleo, su uso actual está muy limitado debido a su alto costo de producción. Por este motivo, gran parte de las investigaciones realizadas sobre los biopolímeros en los últimos años se han concentrado en reducir los costos de producción y aumentar la productividad utilizando diversas estrategias. En ellas se encuentran al rastreo de nuevas cepas productoras, la optimización de las estrategias de cultivo y la producción de estos utilizando cepas recombinantes (Valero-Valdivieso M., et al., 2013).

3.17. Aplicaciones.

3.17.1. Polímeros.

El uso diario, útil y acelerado hace ya natural su consumo por todos los satisfactores que genera en los sectores industriales en los que participa, en la **Figura 20** se muestran los más utilizados hoy en día.

Las aplicaciones y los productos poliméricos se pueden agrupar de acuerdo a su uso en diferentes formas, las más generales se describen a continuación (López F et al., 2015):

- Envase y empaque
- Consumo
- Construcción
- Muebles
- Industrial
- Eléctrico-Electrónico
- Transportación
- Adhesivos y recubrimiento
- Médico
- Agrícola



Figura 20. Ejemplos de diferentes usos de los polímeros.

3.17.2. Biopolímeros.

Aunque aún no son muy comercializados ni presentan gran demanda mundial, algunas aplicaciones industriales son en la fabricación de películas delgadas de recubrimiento; agentes ligantes en formulaciones de tintas a base de agua; como fuente de monómeros quirales para la síntesis de compuestos activos y como soporte para ingeniería de tejidos e implantes médicos temporarios.

La aplicación más conocida de los biopolímeros de cadena corta es para la fabricación de botellas desechables, bolsas y otros productos desechables como pañales, servilletas, rastrillos, vasos y cubiertos. Además, pueden ser usados en la cubierta de materiales fibrosos como papel o cartón a partir de la forma de látex acuoso. De esta manera, dado su alta resistencia al agua, está cubierta protege al papel o cartón contra el deterioro causado por la humedad (Lemos A & Mina A., 2015).

En la **Figura 21** se muestran algunos ejemplos de los diferentes usos de los biopolímeros.



Figura 21. Ejemplos de diferentes usos de los biopolímeros (AIMPLAS., 2011).

4. JUSTIFICACIÓN

4. Justificación

De acuerdo con reportes emitidos por la ONU en el 2018, alrededor de 13 millones de toneladas de plástico son vertidos en los océanos cada año, afectando la biodiversidad, la economía y no solo la salud de los humanos, sino poniendo en riesgo la vida de todos los seres vivos que habitamos el planeta ya que, los plásticos tardan cientos o miles de años en descomponerse en el medio ambiente, utilizar masivamente un material tan duradero para la fabricación de objetos desechables es un error de consecuencias catastróficas para el medio ambiente a nivel global.

En México, la INEGI reportó en el 2015, que en el año 2010 se recolectaron en promedio 86,342,420 kg de residuos plásticos al día, sin embargo, para el 2014 esta cantidad aumentó a 102,887,315 kg al día, es decir, en cuatro años se elevó en un 19.16 %.

En ocasiones, la basura que acaba en el suelo o en el agua puede descomponerse y emitir gases como el metano; esto significa que la basura tiene la capacidad de contaminar los tres entornos básicos de la vida en la Tierra, el aire, el agua y el suelo que se contaminan por los desechos arrojados a ellos, además las sustancias tóxicas que emanan de los residuos alteran negativamente su composición, y dado que es consumida por plantas, animales y humanos, provoca enfermedades graves y puede obstaculizar la prevalencia de la vida.

Para contrarrestar lo anterior, en los últimos años la atención se ha centrado en llevar a cabo investigaciones que permitan reemplazar los plásticos de productos básicos a base de petróleo por materiales biodegradables que ofrezcan propiedades mecánicas competitivas y que sean rentables. Los biopolímeros han sido considerados como una alternativa para mitigar el impacto ambiental generado por materiales altamente resistentes como los plásticos sintéticos.

El uso de microorganismos como los hongos, bacterias y levaduras que utilicen sustratos residuales de tipo orgánico para su producción es un tema de

investigación relevante, ya que si bien es cierto que los biopolímeros obtenidos de microorganismos presentan una desventaja en cuanto a las propiedades mecánicas, rendimientos y productividades comparadas con los polímeros, también lo es el hecho de que una de las principales ventajas que estos representan es su alta biodegradabilidad en el ambiente.

El desarrollo de nuevas tecnologías que permita la obtención, estandarización y optimización de la producción de biopolímeros a partir de desechos orgánicos utilizando microorganismos aislados de fuentes naturales tales como los hongos, es de suma importancia ya que como se mencionó anteriormente, presentan la ventaja de que a medida que el micelio se desarrolla se va adhiriendo al biopolímero formado dando como resultado biopolímeros más resistentes.

En el presente proyecto de investigación como una propuesta para la producción de biopolímeros se utilizó el hongo *Acrostalagmus luteoalbus*, el cual es importante resaltar que a la fecha no existen datos que indiquen que este microorganismo sea productor de biopolímeros, lo cual lo hace más interesante dado que estas investigaciones serían de las primeras en llevarse a cabo con este microorganismo.

5. HIPÓTESIS

5. Hipótesis

Si *Acrostalagmus luteoalbus* tiene la capacidad de degradar materia orgánica como sustrato y posee las enzimas capaces de producir biopolímeros, entonces al utilizar desechos de frutas y de granos, así como, diferentes parámetros cinéticos de producción, se esperaría la obtención de biopolímeros con diferentes propiedades.

6. METODOLOGÍA

6. Metodología.

Los reactivos utilizados para el desarrollo de este proyecto de investigación fueron marca Sigma Aldrich, mientras que los medios de cultivo marca Becton Dickinson, el microorganismo utilizado fue *Acrostalagmus luteoalbus*, el cuál fue aislado y purificado (utilizando diferentes medios de cultivo selectivos y diferenciales) a partir de *Ulomoides dermestoides*, la identificación inicial se realizó por morfología macroscópica, microscópica y posteriormente por la técnica de PCR a cargo de la Universidad Autónoma de Chapingo, LANISAF.

6.1. Preparación de medios de cultivo para el aislamiento y purificación.

6.1.1. Agar papa dextrosa.

La preparación del medio Agar papa dextrosa se realizó siguiendo las indicaciones del proveedor, el cual indica que para preparar un litro de medio se deben pesar 39 g del medio deshidratado e hidratarlo al 80 % del volumen a preparar con agua destilada. Una vez hidratado, completar el volumen final, clarificar (calentar lentamente hasta ebullición suave, hasta que se vea claro), tapan el matraz y esterilizar en autoclave a 15 lb/in² por 15 minutos. Transcurrido éste tiempo, dejar enfriar aproximadamente a 50 °C y servir de 25 a 30 mL en cada caja petri formando una capa de aproximadamente 7 mm de grosor. Enfriar hasta solidificar a temperatura ambiente, realizar prueba de esterilidad (colocando en la incubadora 37 °C, 24 - 48 h) y resguardar en refrigeración para su conservación a una temperatura de aproximadamente 5 °C, hasta su uso.

6.1.2. Agar dextrosa Sabouraud.

La preparación del medio Agar dextrosa Sabouraud se realizó siguiendo las indicaciones del proveedor, el cual indica que para preparar un litro de medio se deben pesar 65 g del medio deshidratado e hidratarlo al 80 % del volumen a preparar de agua destilada. Una vez hidratado, seguir las indicaciones mencionadas en la preparación del medio anterior.

6.2. Aislamiento y purificación del microorganismo a partir de *Ulomoides dermestoides*.

Esterilizar un mortero con pistilo, espátula y pinzas para la manipulación de los escarabajos, triturar 10 g de gorgojos en condiciones de esterilidad en el mortero y colocar en una botella de dilución con 90 mL de solución salina isotónica estéril y agitar vigorosamente, dejar sedimentar los sólidos y posteriormente realizar diluciones seriadas de 10^{-1} a 10^{-6} con SSFE.

A partir de las diluciones preparadas, sembrar por duplicado en cajas con medio de cultivo PDA y SDA e incubar a temperaturas de 28 y 30 ± 0.5 °C, después de 10 días de incubación observar el crecimiento de los diferentes hongos.

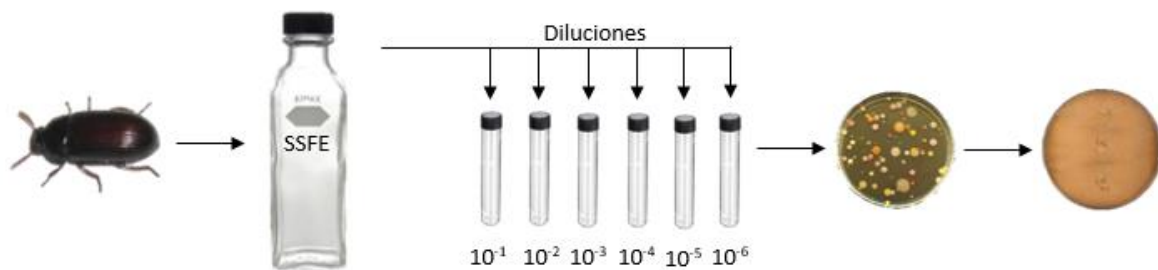


Figura 22. Etapa 1: Aislamiento y purificación del microorganismo.

6.3. Identificación del microorganismo.

El hongo productor de biopolímero fue aislado, purificado y se identificó el género por morfología macroscópica y microscópica (microcultivo). El color del hongo va de rojo a café (dependiendo de la edad del cultivo), y el polímero formado es extracelular, por lo que es visible a simple vista.

El hongo purificado, se identificó por la técnica de PCR en la Universidad Autónoma de Chapingo, LANISAF. El microorganismo identificado fue *Acrostalagmus luteoalbus* del cual no existe información sobre producción de polímero, sin embargo, mediante el uso de diferentes sustratos como fuentes de carbono se obtuvieron polímeros con distintas características.

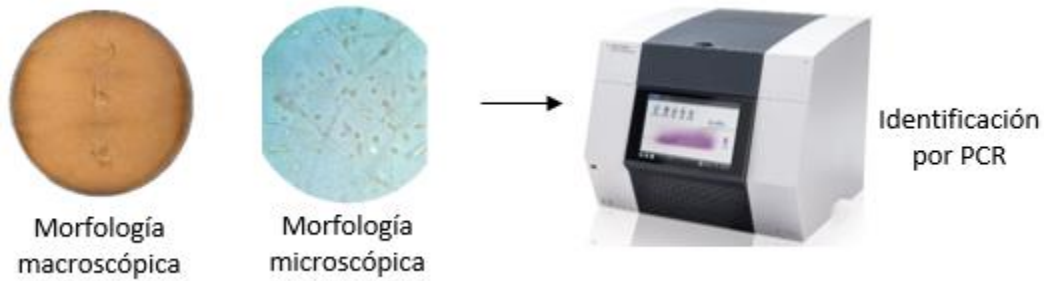


Figura 23. Etapa 2: Identificación del microorganismo.

6.4. Formulación de los medios de cultivo de producción de biopolímero.

Se prepararon diferentes medios de cultivo para la producción de biopolímeros a partir de residuos de tipo orgánico: cáscara de naranja, tuna, plátano, pulpa con cáscara de tejocote, olote y sacarosa, además se emplearon diferentes sales y agar para obtener un medio sólido.

6.4.1. Hidrólisis ácida del sustrato.

Las cáscaras y residuos orgánicos utilizados como fuente de carbono, en la preparación de los diferentes medios de cultivo, se lavaron, secaron, molieron, pesaron y se hidrolizaron durante 20 minutos a 10 lb/in² ajustando el pH a 3.0. Se dejó reposar y se retiraron los sólidos por filtración resguardando el sobrenadante, cabe mencionar que la pulpa con cáscara de tejocote se utilizó en base húmeda.

6.4.2. Preparación del medio de cultivo.

En la **Tabla 9** se presentan las cantidades utilizadas para la formulación de cada medio de cultivo.

Tabla 9. Componentes utilizados en la formulación de los diferentes medios de cultivo (g/L).						
Componente	Medio 1	Medio 2	Medio 3	Medio 4	Medio 5	Medio 6
	Cáscara de naranja	Cáscara de tuna	Cáscara de plátano	Pulpa con cáscara de tejocote	Olote	Sacarosa
Desecho orgánico (g/L)	50	50	50	30	50	--
Sacarosa (g/L)	--	--	--	--	--	30
NaNO₃ (g/L)	3	3	3	3	3	3
KH₂PO₄ (g/L)	1	1	1	1	1	1
MgSO₄ (g/L)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
KCl (g/L)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
FeSO₄ (mg/L)	10	10	10	10	10	10
Ácido Fólico (g/L)	0.166	0.166	0.166	0.166	0.166	0.166
Agar (g/L)	15	15	15	15	15	15

Una vez pesadas las cantidades correspondientes al medio a formular, medir el volumen a preparar y ajustar el pH a 6.0, clarificar y esterilizar en autoclave a 15 lb/in² durante 15 minutos. Sacar de la autoclave, dejar reposar hasta alcanzar una temperatura de 50 ± 2 °C y servir 35 ± 1 mL en cajas Petri estériles de 100 x 15 mm y dejar gelificar.



Figura 24. Etapa 3: Formulación de los medios de cultivo para la producción de biopolímero.

6.5. Producción del biopolímero.

6.5.1. Inoculación del microorganismo en el medio de producción de biopolímero.

Una vez gelificadas las cajas a temperatura ambiente, se sembraron por picadura con *Acrostalagmus luteoalbus* y se incubaron a 28 ± 2 °C, en condiciones aerobias durante dos meses y medio, se muestreo el crecimiento y la formación del biopolímero durante cada semana hasta completar once semanas. Cada sustrato fue preparado y sembrado por triplicado.

6.5.2. Recuperación y purificación del biopolímero.

Los medios de cultivo que contenían el microorganismo y los biopolímeros, fueron monitoreados (pesados) cada semana, hasta la semana once, así mismo, al término de cada tiempo los polímeros fueron recuperados, y esterilizados en autoclave a 15 lb/in² durante 30 minutos. Una vez estériles y en caliente se elimina el agar fundido, se recupera el biopolímero y se somete a reflujo 3 horas con agua destilada para eliminar los restos de agar y cualquier otra impureza, repetir este procedimiento para cada biopolímero obtenido con los diferentes sustratos.

Finalmente, para conocer el rendimiento, el polímero fue secado y pesado. Los resultados fueron graficados como la media del porcentaje de biopolímero \pm el error estándar de la media en función del tiempo, cada experimento se realizó por triplicado, n=3.

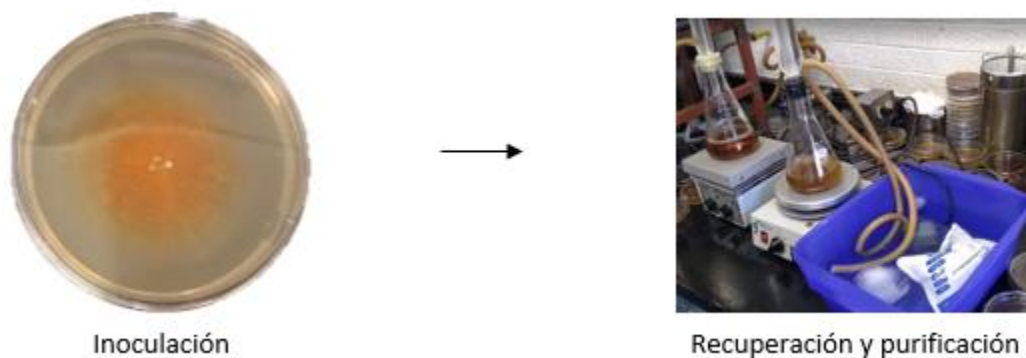


Figura 25. Etapa 4: Producción del biopolímero.

6.6. Caracterización del biopolímero.

Una vez purificados los biopolímeros se realizaron distintas pruebas para conocer las propiedades de estos en base a la fuente de carbono usada en su producción: microscopía electrónica de barrido, punto de fusión, combustión, solubilidad, así como, análisis elemental (CHNS), termogravimetría (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC), estos últimos a cargo de la Facultad de Química-UNAM.

6.6.1. Microscopía Electrónica de Barrido.

El trabajo de Microscopía Electrónica fue apoyado por la Técnico Académico M. en C. Sofía González Gallardo responsable del Laboratorio de Microscopia Electrónica en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de Campo 4 de la FESC.

Para conocer la morfología microscópica del biopolímero formado se utilizó un microscopio de barrido JEOL JSM- 6010LA (**Figura 26**), a 15 Kv a una distancia de trabajo de 18 mm y un haz de 41. Barra de 10 μm X 2500 Å, se observó el biopolímero a diferentes semanas de crecimiento para comparar sus características.



Figura 26. Microscopio Electrónico de Barrido. Fotografía tomada en el Laboratorio de microscopia electrónica en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de Campo 4 de la FESC-UNAM.

6.6.2. Determinación de punto de fusión.

El punto de fusión se determinó en el equipo Fisher-Johns (**Figura 27**). Se colocó un pequeño pedazo de biopolímero entre dos cubreobjetos redondos. Posteriormente, se acomodaron los cubreobjetos con la muestra sobre la platina del aparato. Seguido de esto se encendió el equipo, se posicionó la lupa sobre la platina y se giró la perilla del reóstato para aumentar la temperatura. Para determinar la temperatura de fusión se observó la platina y el termómetro del equipo a la vez hasta que se observara que el sólido se funde, en ese momento se registró la temperatura, sin embargo, se recomienda llegar a una temperatura máxima de 250 °C. Finalmente se apagó el equipo y se dejó enfriar.



Figura 27. Equipo Fisher-Johns. Fotografía tomada en el laboratorio de Química Experimental Aplicada L-103.

6.6.3. Prueba de combustión.

Para la prueba de combustión se evaluó la reacción que las muestras de biopolímero presentan ante la flama. Para esto se utilizó un mechero Meker-Fisher, se colocó una pequeña muestra de biopolímero sobre una espátula y esta a su vez sobre el mechero. Se observaron características tales como olor, color de la flama, color del biopolímero y si se obtenían cenizas o no.

6.6.4. Pruebas de solubilidad.

Las pruebas de solubilidad se realizaron en tubos de vidrio con 1 mL de disolvente, donde se colocaron 50 mg de biopolímero y se observó si este se disolvía o no. Los disolventes que se usaron fueron: agua, dimetil sulfóxido, 2-isopropanol, tolueno, hexano, xileno, CCl_4 , cloroformo, acetato de etilo, acetona.

6.6.5. Análisis elemental.

La determinación analítica se llevó a cabo por duplicado en un Analizador Perkin Elmer PE2400 que da información de la presencia y contenido porcentual de carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre. Para ello se pesó aproximadamente 2 mg de muestra y adicionalmente se fijaron los valores de los parámetros analíticos

siguientes: tipo de programa utilizado, temperatura de la columna cromatográfica, así como temperatura del reactor de combustión y tiempo de medición, como se muestra en la **Tabla 10**.

Tabla 10. Condiciones analíticas del Analizador Elemental Perkin Elmer modelo PE2400.	
Gas acarreador / gas de referencia	Helio
Temperatura de la columna cromatográfica	82.2 °C
Detector	Conductividad térmica
Temperatura del reactor de combustión	975 °C
Temperatura del reactor de reducción	501 °C
Programa analítico	CHNS
Tiempo de análisis	430 segundos
Compuestos de calibración	Cistina, marca PerkinElmer

6.6.6. Termogravimetría (TGA) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).

Se realizó termogravimetría (TGA), con un equipo marca Perkin Elmer, modelo TGA4000, con software Pyris. Se calibró el equipo con tres materiales diferentes: Alumel, Perkalloy e hierro. Una vez calibrado el equipo, se pesó la muestra en panel de alúmina de 70 μL y se inició el calentamiento de 30 a 550 °C, con rampa de calentamiento de 10 °C/min en atmósfera de nitrógeno.

Por otro lado, se realizó la Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), con un equipo marca Mettler Toledo, modelo DSC1, con STAR software versión 14.0. Se calibró el equipo tres veces diferentes de acuerdo a la determinación a realizar: ajuste de temperatura, flujo de calor y calibración total. Una vez calibrado el equipo se pesó la muestra en panel de aluminio de 40 μL con tapa, se encapsuló, se hizo un orificio en el centro de la tapa y se inició el calentamiento de 25 a 550°C, con rampa de calentamiento de 10 °C/min en atmósfera de nitrógeno.



Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)



Determinación de punto de fusión



Pruebas de combustión



Pruebas de solubilidad



Análisis Elemental



Análisis Termogravimétrico



Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Figura 28. Etapa 5: Caracterización del biopolímero.

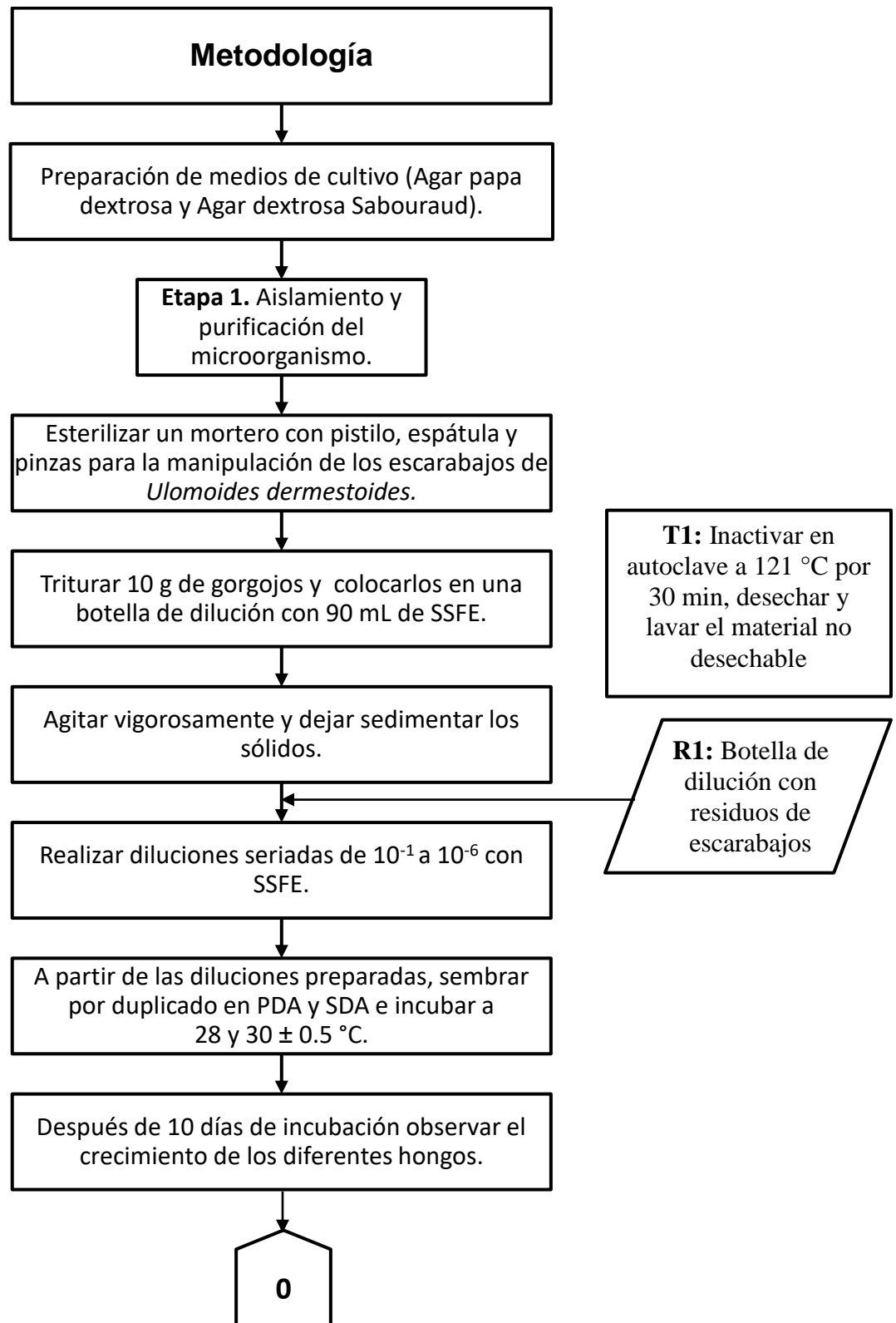
Los fundamentos de las técnicas utilizadas para la caracterización del biopolímero se presentan en el **Anexo 3**, además del Diagrama de Flujo para cada técnica realizada, así como, las condiciones generales de operación para cada método.

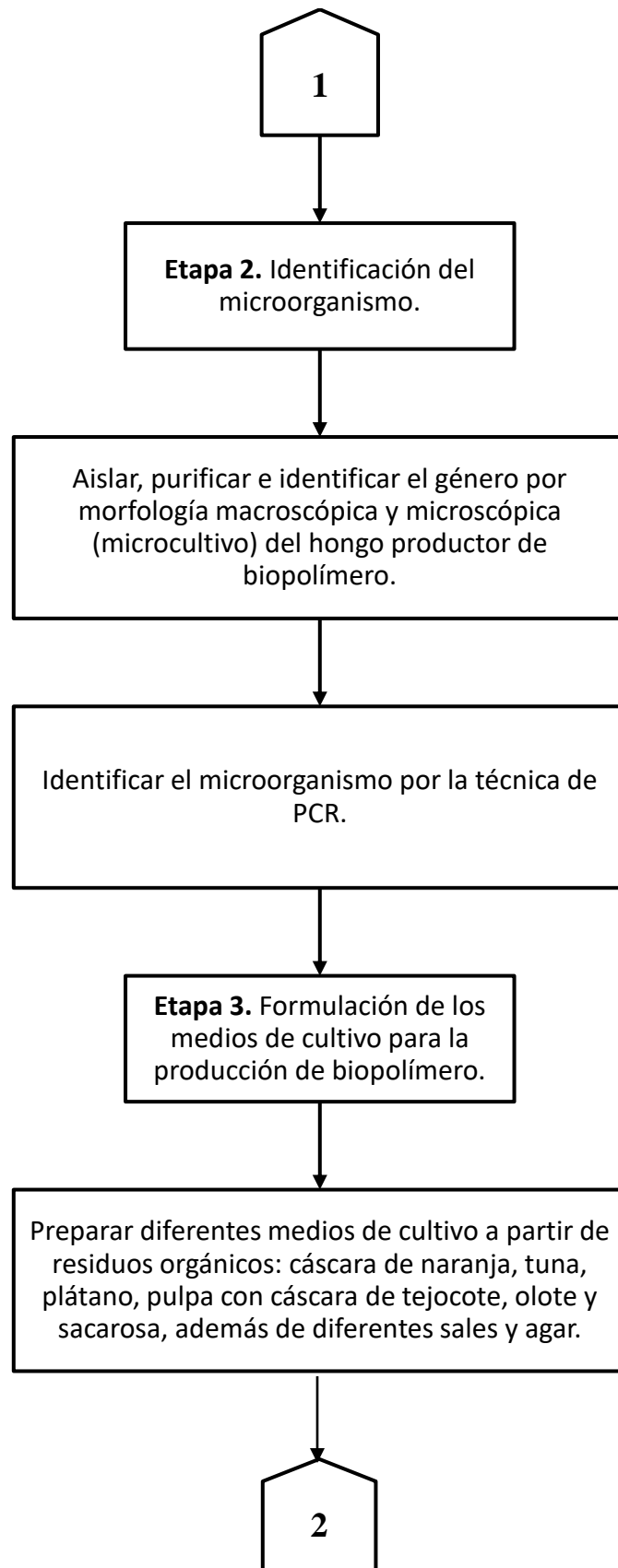
Análisis estadístico.

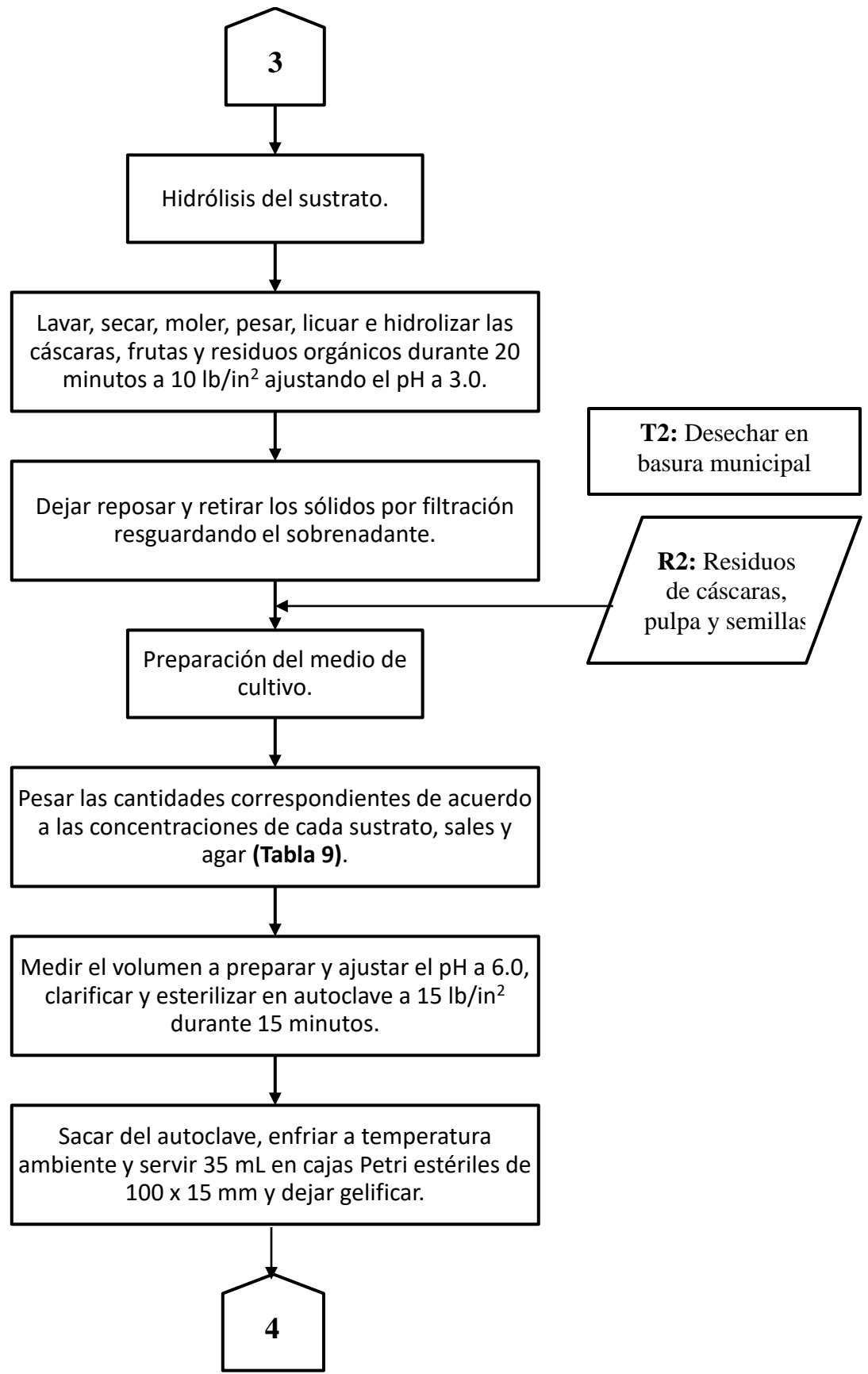
Todos los datos se presentan como la media \pm del error estándar ($n=3$), la producción de biopolímero en masa seca fue calculada usando una ANOVA unifactorial de medidas repetidas, seguida por una prueba post hoc de Student

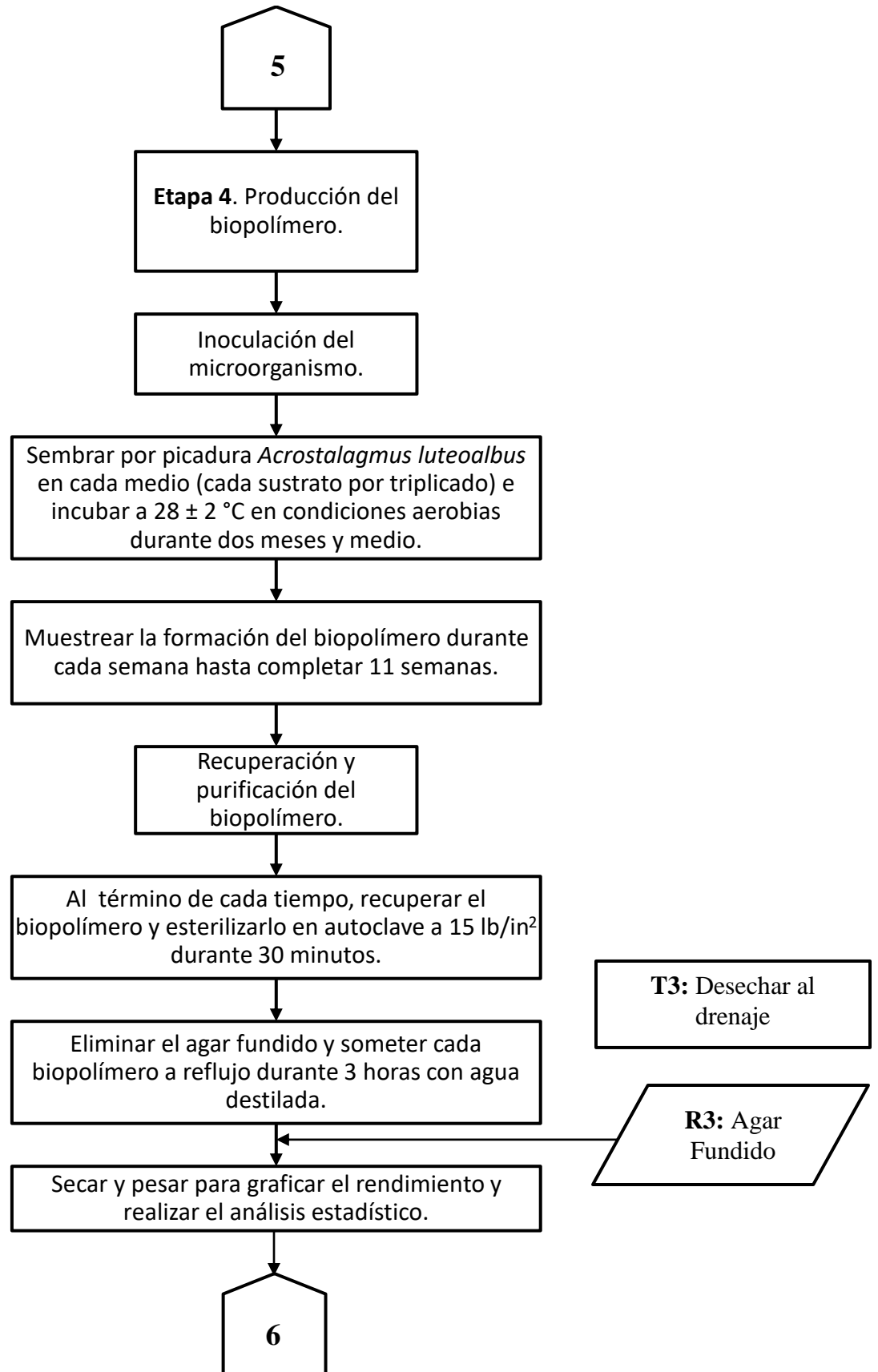
Newman–Keuls, las diferencias fueron consideradas significativas cuando $p \leq 0.05$. Las pruebas estadísticas se realizaron utilizando el programa Sigma Plot 13 (Jandel Corp., SPSS Inc., San Rafael, CA, USA).

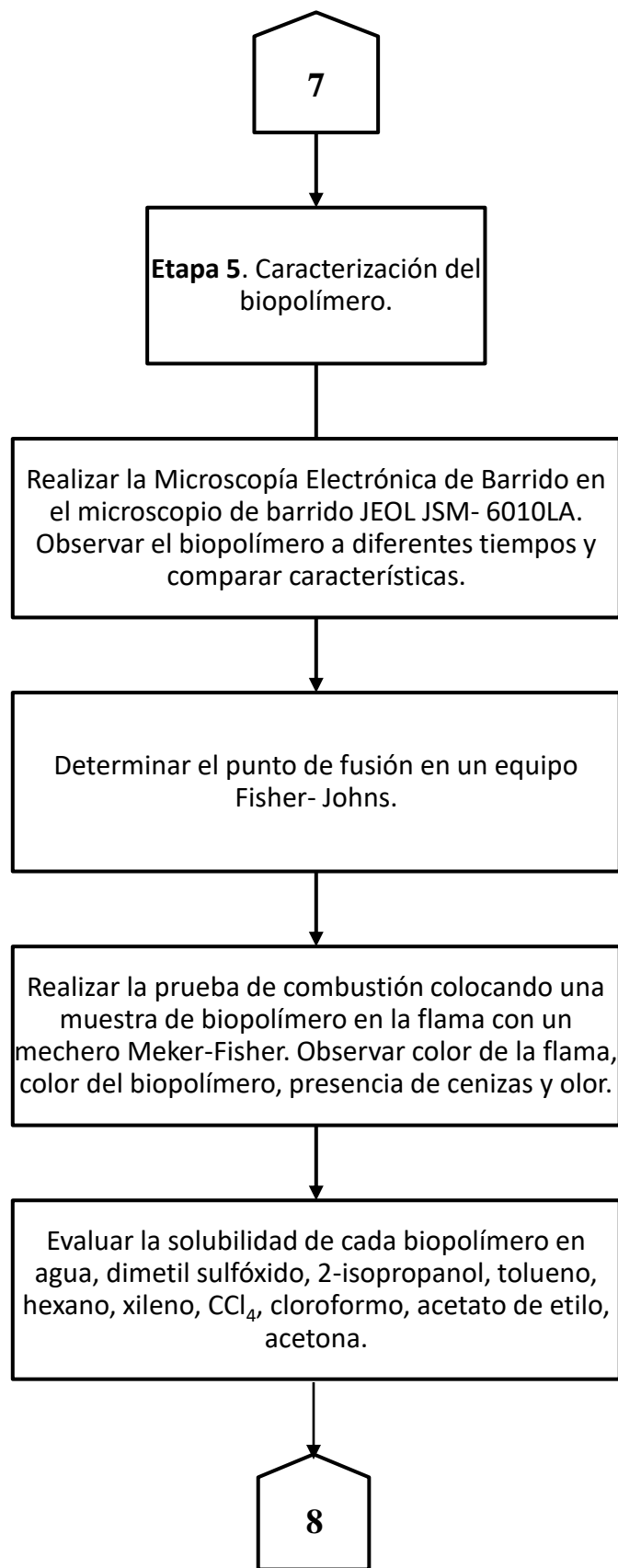
6.7. Diagrama de flujo.











9

Realizar la determinación analítica elemental por duplicado en un Analizador Perkin Elmer PE2400 con aproximadamente 2 mg de muestra y fijando los valores de los parámetros analíticos descritos en la **Tabla 10**.

Realizar la termogravimetría (TGA) con un equipo marca Perkin Elmer modelo TGA4000, con software Pyris iniciando el calentamiento de 30 a 550 °C, con rampa de calentamiento de 10 °C/min en atmósfera de nitrógeno.

Realizar la Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) con un equipo marca Mettler Toledo modelo DSC1 con STAR software versión 14.0 iniciando el calentamiento de 25 a 550 °C, con rampa de calentamiento de 10 °C/min en atmósfera de nitrógeno.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7. Resultados y Discusión.

7.1. Identificación del microorganismo por morfología macroscópica y microscópica.

La identificación del microorganismo se realizó por morfología macroscópica y microscópica. En las **Figuras 29 y 30** se muestra el crecimiento macroscópico de *Acrostalagmus luteoalbus*, en los diferentes medios utilizados a través del tiempo.



Figura 29. Crecimiento macroscópico de *Acrostalagmus luteoalbus* en los diferentes medios utilizados a las tres semanas.

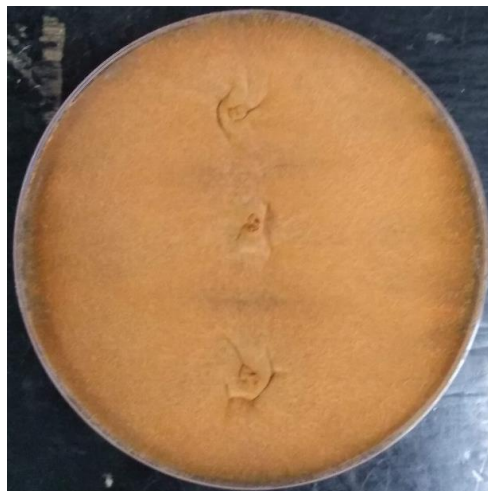


Figura 30. Crecimiento macroscópico de *Acrostalagmus luteoalbus* a las once semanas.

En la **Figura 31**, se presenta el microcultivo realizado según la técnica de Riddel (cámara húmeda estéril) y la morfología microscópica de *Acrostalagmus luteoalbus* con azul de lactofenol.

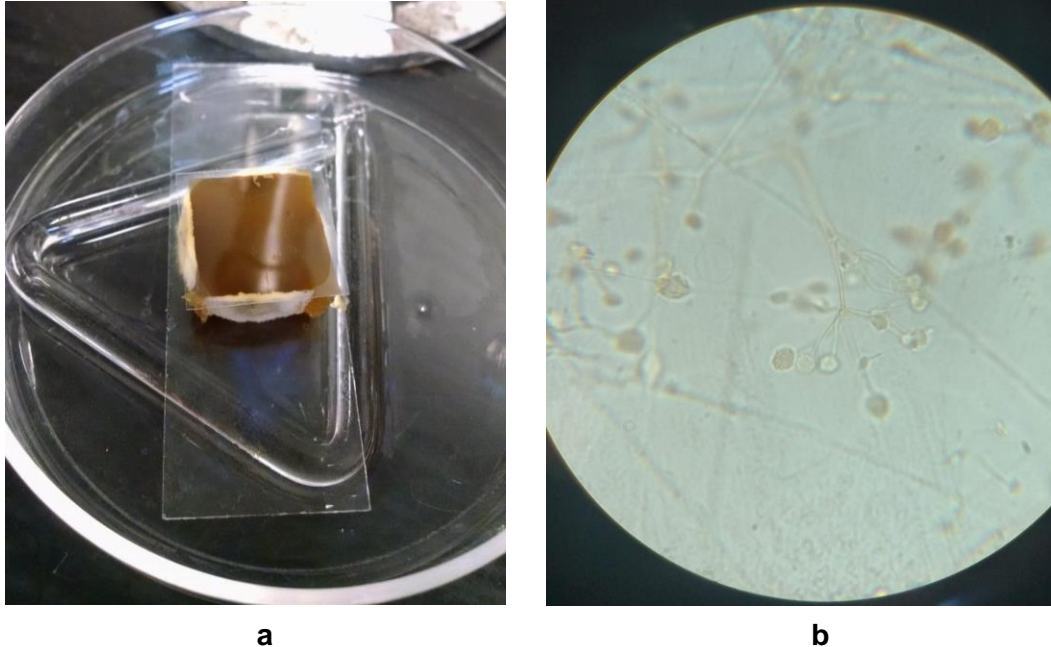


Figura 31. a) Microcultivo realizado para *Acrostalagmus luteoalbus*
b) Microscopía con azul de lactofenol vista a 1000 X con microscopio óptico compuesto marca Leica modelo 1349521X.

Según la literatura, *Acrostalagmus* posee hifas septadas hialinas, formando un micelio tabicado. Estas hifas suelen ser muy finas y estrechas y su parte especializada, el conidióforo (simple o ramificado), produce fiálides simples o solitarias erguidas, muy largas, separadas de las hifas por un tabique y dispuestas en forma de verticilo alrededor del conidióforo. *Acrostalagmus* forma generalmente conidios unicelulares de forma elíptica alargada, con cierta curvatura central. Estos conidios suelen aparecer en grupos formando agregados, principalmente el ápice de cada fiálide (**Figura 32**) (Fernández M., 2010).

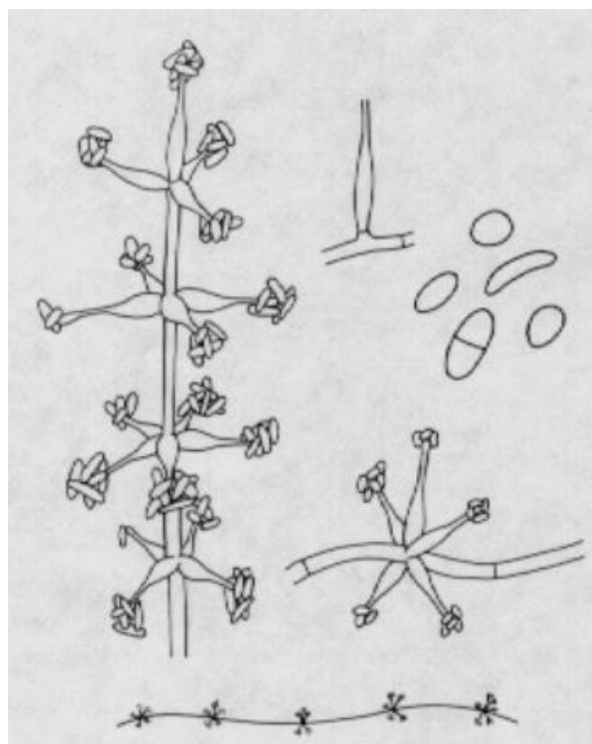


Figura 32. Estructura microscópica de *Acrostalagmus luteoalbus*. Imagen reportada por Fernández M. en 2010.

7.2 Identificación del microorganismo por la técnica de PCR.

La identificación se realizó por PCR en un microscopio de contraste de fases Nikon eclipse Ni-U y para el tratamiento de la muestra una centrífuga refrigerada BIM-E-003, nanodrop modelo Q3000 y termociclador Select Cyclor II BIM-E-0081, a cargo de la Universidad Autónoma de Chapingo, LANISAF. Los resultados se muestran en la **Tabla 11**.

Tabla 11. Identificación del microorganismo por la técnica de PCR. Realizado por Universidad Autónoma Chapingo. Laboratorio Nacional de Investigación y Servicio Agroalimentario y Forestal. LANISAF.			
Especie alineada	Porcentaje de similitud	Número de acceso de secuencia alineada	País de la secuencia alineada
<i>Acrostalagmus luteoalbus</i>	100%	KT715723	Italia

7.3. Producción de biopolímero.

Se prepararon seis medios de cultivo utilizando diferentes sustratos: cáscara de naranja, plátano y tuna, pulpa con cáscara de tejocote, olote y sacarosa. Cada tiempo se llevó a cabo por triplicado (n=3), para evaluar el crecimiento y producción del biopolímero, se realizaron muestreos cada semana durante once semanas. En la **Figura 33** se observa la producción de biopolímero en medio de cultivo utilizando sacarosa como sustrato visto a través de un microscopio estereoscópico a 4X BOECO Germany modelo BOE3200.001.

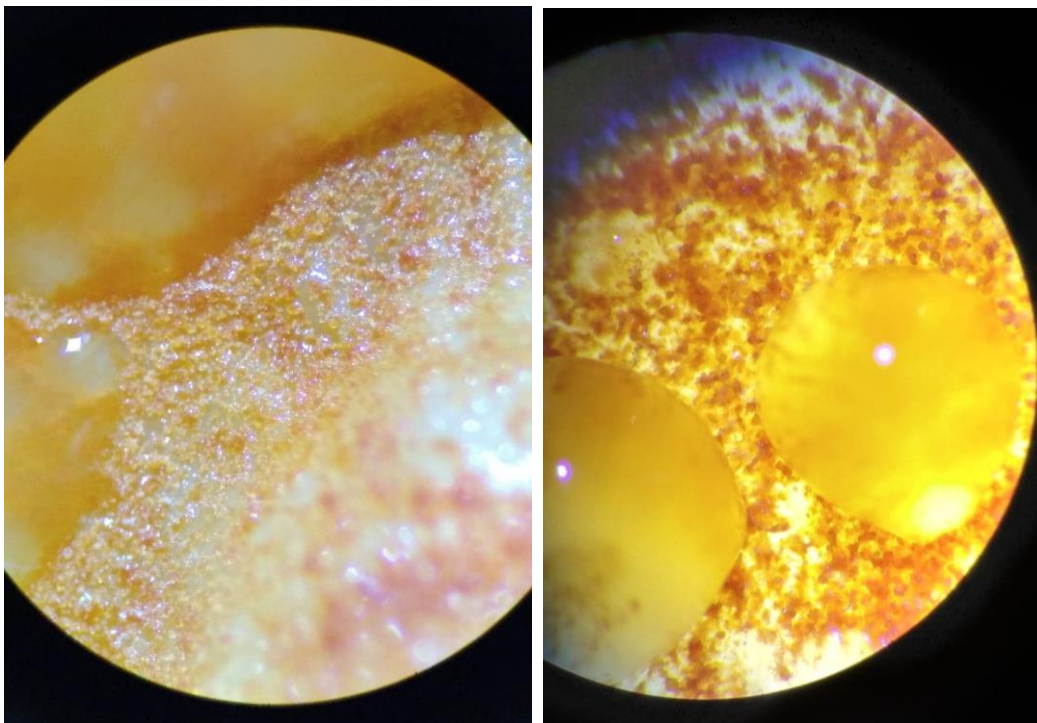


Figura 33. Producción de biopolímero en medio de cultivo utilizando sacarosa como sustrato visto a través del microscopio estereoscópico a 4x marca BOECO Germany modelo BOE3200.001.

Como se observa en la **Figura 33** el biopolímero producido es extracelular, a diferencia de los producidos por bacterias, que son intracelulares en forma de gotas y requieren ser extraídos por medio de solventes orgánicos, precipitación, solubilización de biomasa, filtración o centrifugación (Malagón M et al., 2017), con la ventaja de que, al aprovechar la estructura micelar del hongo, este funciona como “pegamento” que, dependiendo de las condiciones de crecimiento, presentará un

polímero más compacto y de mejores características (Escuela de Organización Industrial., 2015).

En la **Figura 34** se muestra el crecimiento de *Acrostalagmus luteoalbus*, donde se aprecia una capa delgada en la parte superior, esto es la formación del biopolímero y además se observan las esporas del hongo en la superficie del recipiente, en la **Figura 35** se observa la producción que se realizó en cajas Petri, mientras que en la **Figura 36** se muestran biopolímeros ya lavados, después de estar a reflujo por 3 horas retirando los restos de agar.

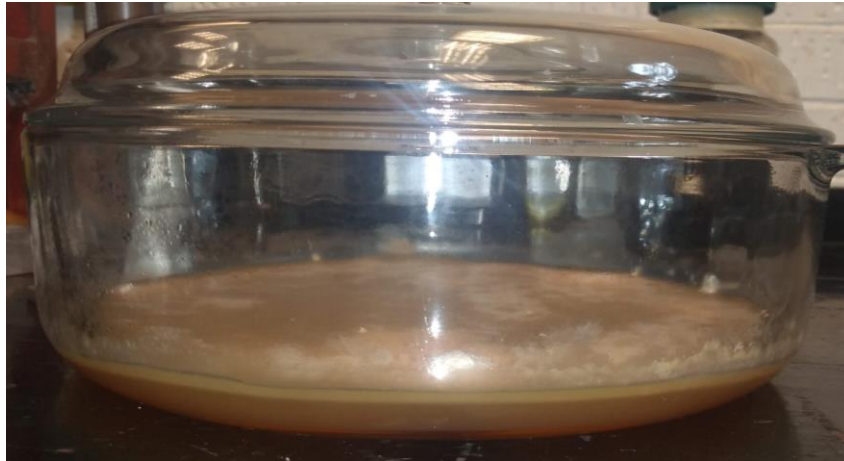


Figura 34. Producción de biopolímero en refractario de vidrio, utilizando sacarosa como sustrato.

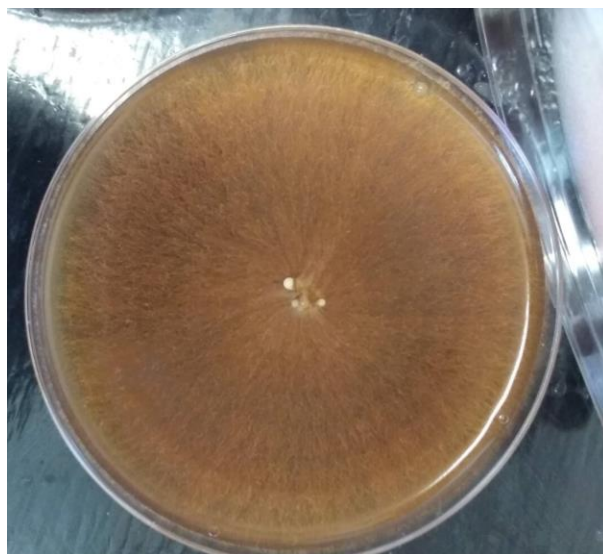


Figura 35. Producción de biopolímero en medio de cultivo utilizando cáscara de tuna como sustrato.

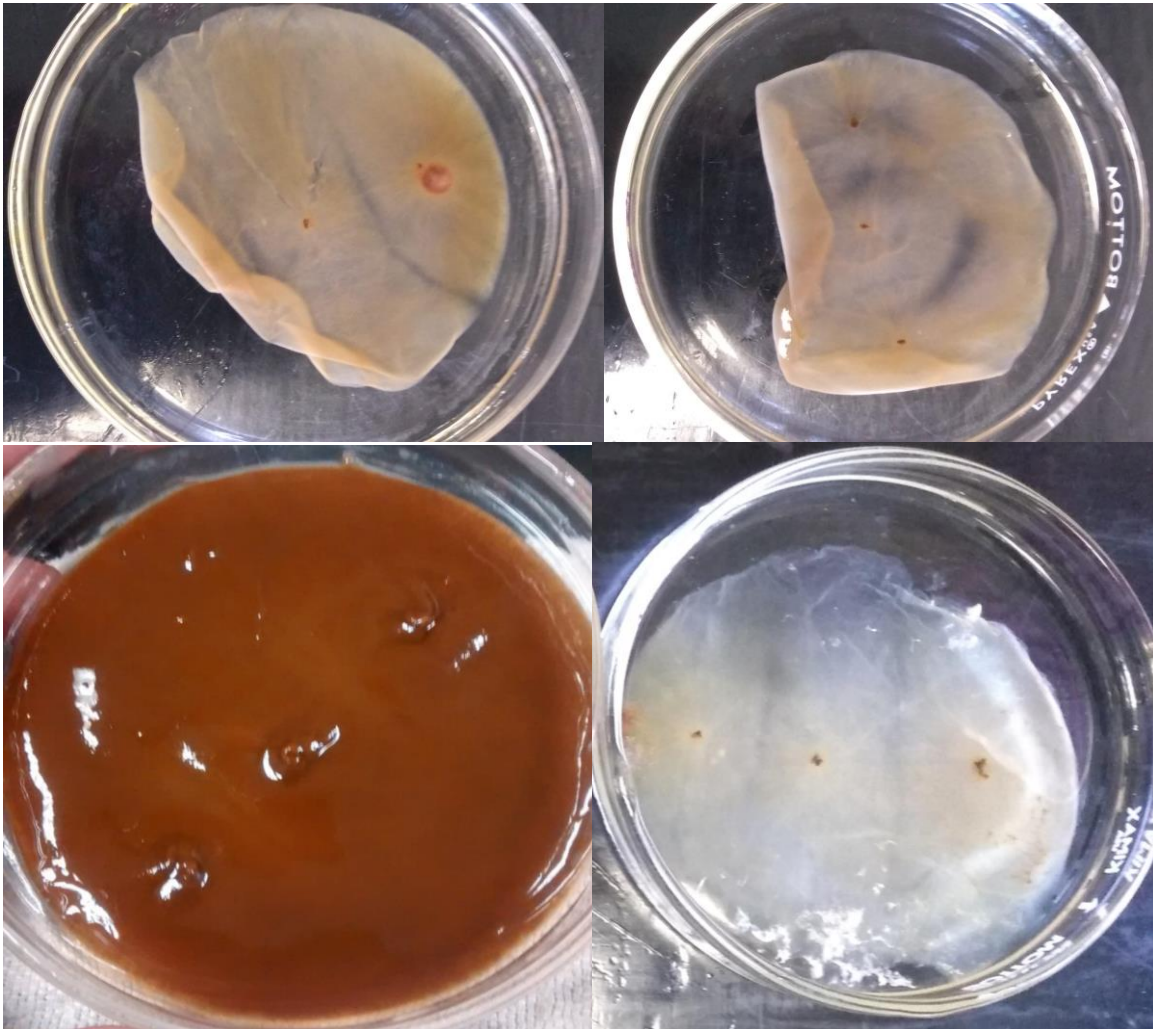


Figura 36. Biopolímeros después de lavar a reflujo por 3 horas.

Una vez seco, se pesó y se calculó el porcentaje de biopolímero obtenido a partir de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Biopolímero} = \frac{\text{Masa de biopolímero en gramos}}{\text{Masa de sustrato en gramos}} \times 100$$

En la **Tabla 12** se presentan los resultados de la media del rendimiento de producción de biopolímero $Y_{p/s} \pm$ el error estándar expresado en porcentaje para cada sustrato utilizado durante once semanas, donde se observa que dependiendo

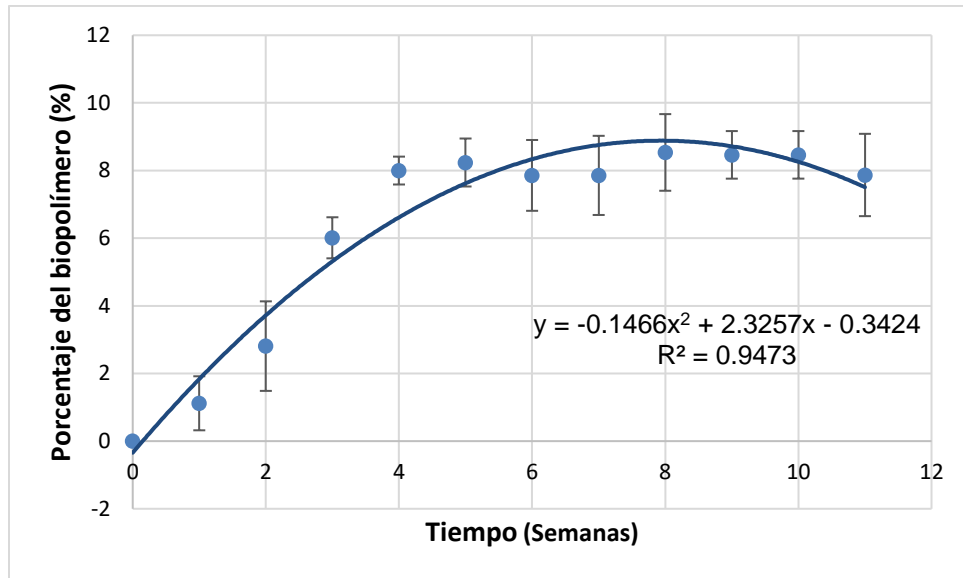
del sustrato, la producción alcanzó su máximo valor a diferentes semanas, además se realizó el análisis estadístico seguido de una prueba post hoc Tukey donde se consideró que existía una diferencia significativa cuando $p \leq 0.05$.

Tabla 12. Resultados de la media del rendimiento de biopolímero Yp/s \pm el error estándar, expresado en porcentaje.

Tiempo (Semanas)	Cáscara de naranja	Olote	Cáscara de tuna	Pulpa con cáscara de tejocote	Cáscara de plátano	Sacarosa
0	0	0	0	0	0	0
1	1.12 \pm 0.80	3.99 \pm 0.65	4.94 \pm 0.94	4.67 \pm 0.50	3.69 \pm 0.23	0.41 \pm 0.08
2	2.81 \pm 1.32	5.99 \pm 1.01	6.85 \pm 0.92	6.43 \pm 1.15	4.87 \pm 0.91	2.57 \pm 0.06
3	6.01 \pm 0.61	7.63 \pm 0.89	8.95 \pm 0.77	10.32 \pm 1.45	5.77 \pm 0.81	4.67 \pm 0.49
4	8.00 \pm 0.41	7.95 \pm 0.61	9.32 \pm 1.36	11.97 \pm 0.87	8.56 \pm 0.99	6.09 \pm 0.82
5	8.24 \pm 0.71	8.42 \pm 0.45	8.57 \pm 0.80	13.90 \pm 1.17	8.43 \pm 0.34	9.46 \pm 0.96
6	7.86 \pm 1.05	8.25 \pm 0.31	9.37 \pm 0.88	11.97 \pm 0.25	8.09 \pm 1.04	8.51 \pm 0.05
7	7.86 \pm 1.17	10.0 \pm 0.45	9.80 \pm 0.35	14.02 \pm 0.92	8.57 \pm 0.45	8.67 \pm 0.29
8	8.54 \pm 1.13	9.25 \pm 1.06	9.80 \pm 1.00	15.02 \pm 1.49	8.30 \pm 0.47	11.94 \pm 1.07
9	8.46 \pm 0.70	8.59 \pm 0.83	9.30 \pm 0.53	17.10 \pm 1.29	9.29 \pm 0.63	14.95 \pm 1.30
10	8.46 \pm 0.70	8.14 \pm 1.07	10.15 \pm 0.75	16.54 \pm 0.47	7.56 \pm 0.56	15.62 \pm 0.77
11	7.87 \pm 1.22	7.89 \pm 0.93	8.68 \pm 0.54	15.86 \pm 1.58	7.30 \pm 0.58	13.30 \pm 1.37

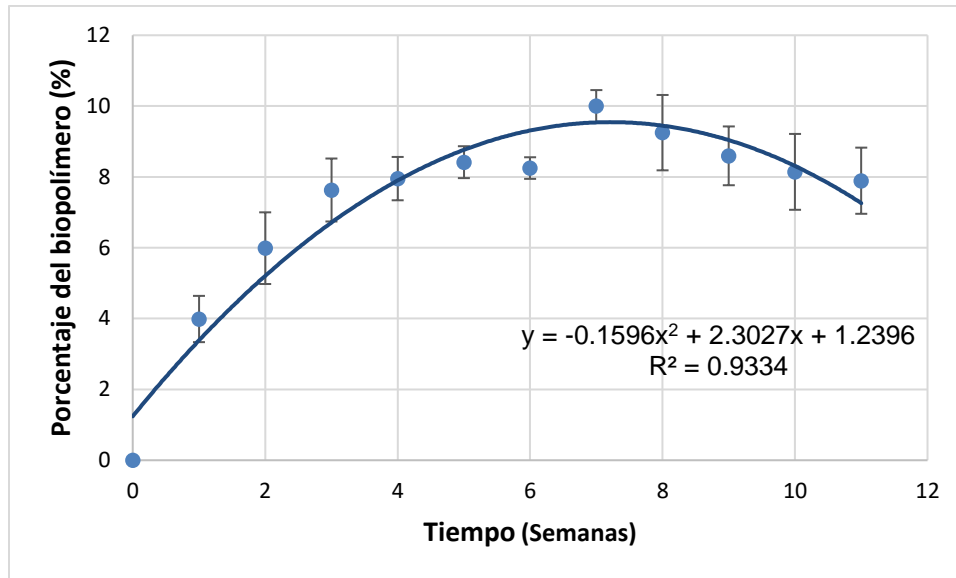
A partir de los datos anteriores se graficó la media del porcentaje de biopolímero \pm el error estándar en función del tiempo para las diferentes fuentes de carbono durante once semanas. Los resultados se expresan en las **Gráficas 2, 3, 4, 5, 6 y 7**, nótese que todas las gráficas tienen una tendencia polinómica de segundo orden. Cabe resaltar que cada uno de los tiempos se llevó a cabo por triplicado ($n=3$).

La **Gráfica 2** corresponde a los resultados experimentales obtenidos utilizando como sustrato cáscara de naranja, donde se observa que hasta la semana cuatro presenta una tendencia lineal y este fue del 8 ± 0.41 % y después de esta semana permanece prácticamente constante a lo largo del tiempo 8.24 ± 0.71 % hasta la semana once 7.87 ± 1.22 %, mientras que el coeficiente de determinación es de 0.9473.



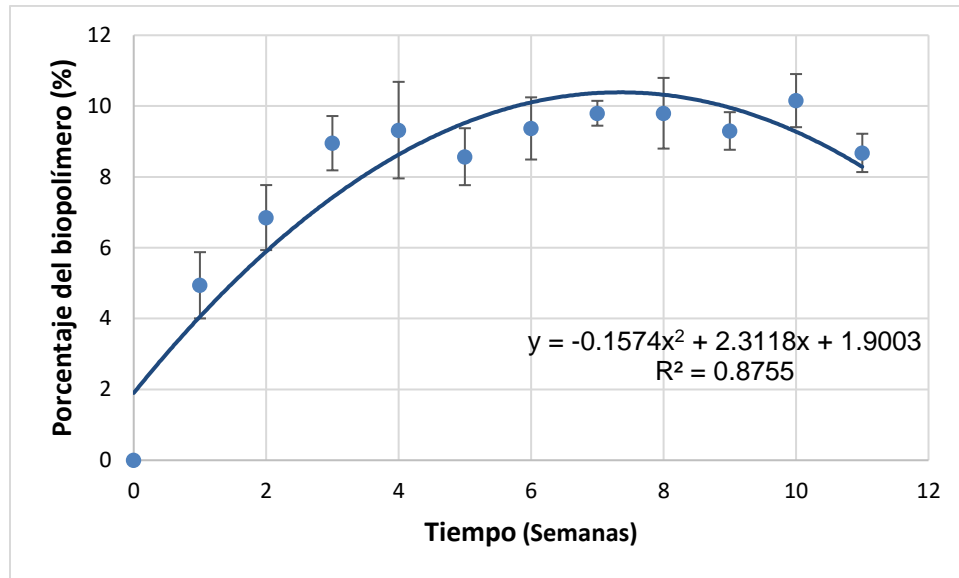
Gráfica 2. Producción de biopolímero expresado en porcentaje en función del tiempo utilizando como sustrato cáscara de naranja. Los resultados presentados en la gráfica corresponden a los valores promedios de tres experimentos ($n=3$), \pm el error estándar de la media. Análisis de varianza unifactorial de medidas repetidas.

La **Gráfica 3** representa los resultados experimentales utilizando como sustrato olote, donde se observa que hasta la semana siete la producción de biopolímero presenta una tendencia lineal, obteniendo su valor máximo del $10 \pm 0.45 \%$ y después permanece prácticamente constante a lo largo del tiempo $9.25 \pm 1.06 \%$ hasta la semana once $7.89 \pm 0.93 \%$, obteniendo un coeficiente de determinación de 0.9334.



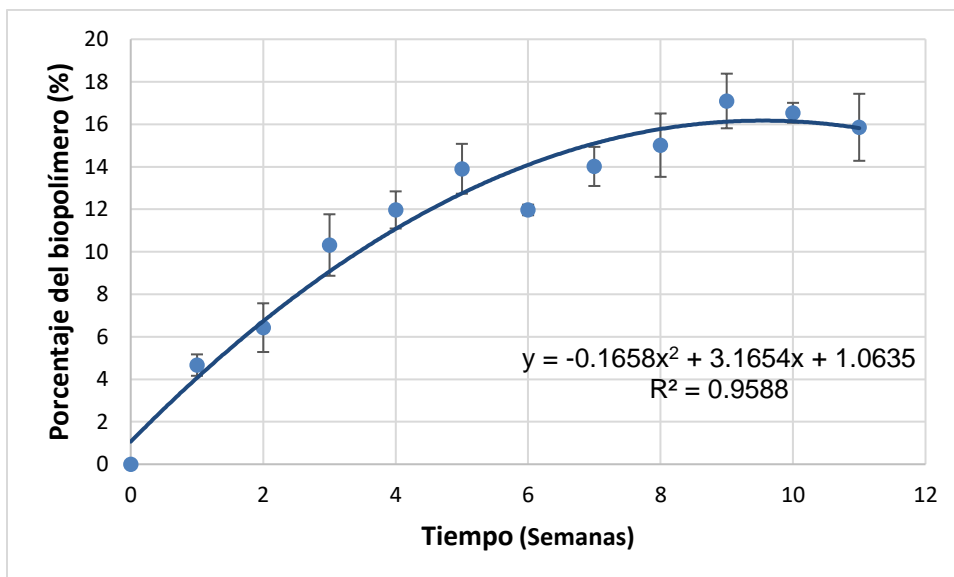
Gráfica 3. Producción de biopolímero expresado en porcentaje en función del tiempo utilizando como sustrato olote. Los resultados presentados en la gráfica corresponden a los valores promedios de tres experimentos ($n=3$), \pm el error estándar de la media. Análisis de varianza unifactorial de medidas repetidas.

En la **Gráfica 4** se muestran los resultados experimentales utilizando como sustrato cáscara de tuna, donde se observa que hasta la semana cuatro la producción de biopolímero presenta una tendencia lineal y este fue del 9.32 ± 1.36 % y después permanece prácticamente constante a lo largo del tiempo hasta la semana diez 10.15 ± 0.75 %, mientras que en la semana once se observa un declive 8.68 ± 0.54 % con un coeficiente de determinación de 0.8755.



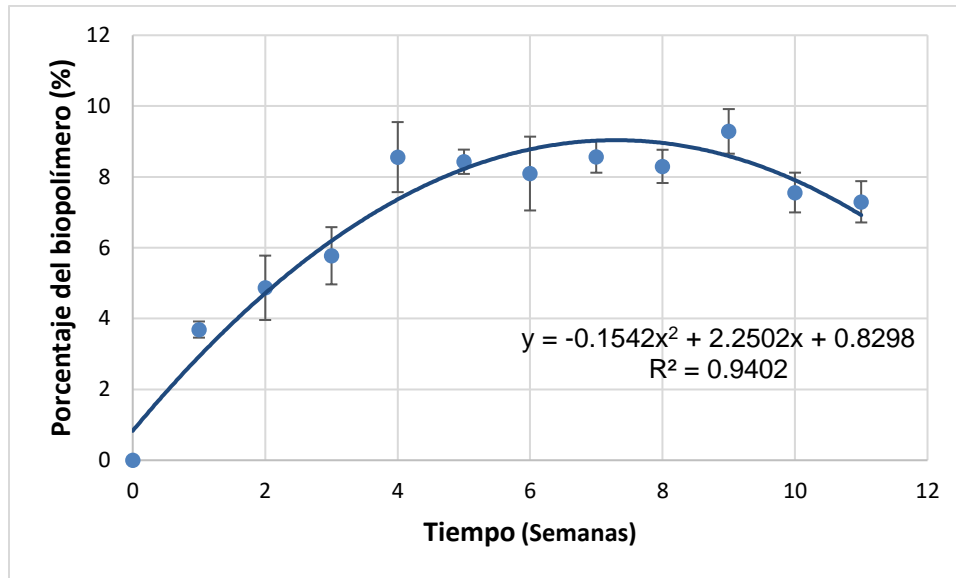
Gráfica 4. Producción de biopolímero expresado en porcentaje en función del tiempo utilizando como sustrato cáscara de tuna. Los resultados presentados en la gráfica corresponden a los valores promedios de tres experimentos (n=3), \pm el error estándar de la media. Análisis de varianza unifactorial de medidas repetidas.

La **Gráfica 5** corresponde a los resultados obtenidos utilizando como sustrato pulpa con cáscara de tejocote, donde se observa que hasta la semana cinco la producción de biopolímero presenta una tendencia lineal y este fue del $13.9 \pm 1.17 \%$, obteniendo en la semana nueve su valor máximo $17.10 \pm 1.29 \%$ y en las siguientes dos semanas muestra un declive $15.86 \pm 1.58 \%$, mientras que su coeficiente de determinación fue de 0.9588.



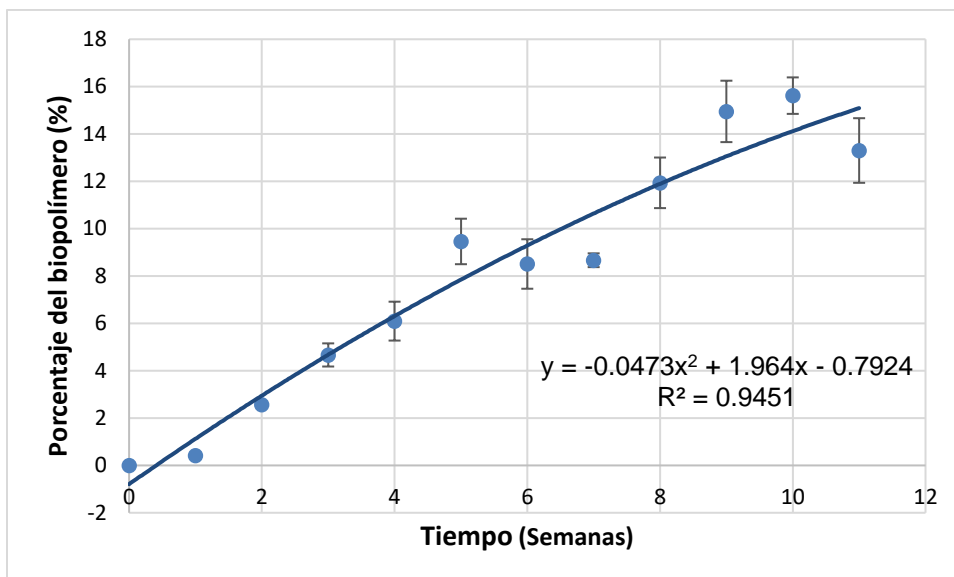
Gráfica 5. Producción de biopolímero expresado en porcentaje en función del tiempo utilizando como sustrato pulpa con cáscara de tejocote. Los resultados presentados en la gráfica corresponden a los valores promedio de tres experimentos (n=3), \pm el error estándar de la media. Análisis de varianza unifactorial de medidas repetidas.

En la **Gráfica 6** se muestran los resultados obtenidos para el sustrato cáscara de plátano, donde se observa que hasta la semana cuatro la producción de biopolímero presenta una tendencia lineal y este fue del 8.56 ± 0.99 %, después se observa constante hasta la semana nueve donde presenta su valor máximo 9.29 ± 0.63 % y disminuye en las siguientes dos semanas hasta 7.30 ± 0.58 % con un coeficiente de determinación de 0.9402.



Gráfica 6. Producción de biopolímero expresado en porcentaje en función del tiempo utilizando como sustrato cáscara de plátano. Los resultados presentados en la gráfica corresponden a los valores promedios de tres experimentos ($n=3$), \pm el error estándar de la media. Análisis de varianza unifactorial de medidas repetidas.

La **Gráfica 7** corresponde a los resultados experimentales obtenidos utilizando como sustrato sacarosa, donde se observa que casi en todos los tiempos presenta una tendencia lineal hasta la semana diez, donde la producción de biopolímero alcanzó su máximo valor $15.62 \pm 0.77 \%$ y en la semana once se observa una disminución $13.3 \pm 1.37 \%$, mientras que su coeficiente de determinación es de 0.9451.



Gráfica 7. Producción de biopolímero expresado en porcentaje en función del tiempo utilizando como sustrato sacarosa. Los resultados presentados en la gráfica corresponden a los valores promedio de tres experimentos (n=3), ± el error estándar de la media. Análisis de varianza unifactorial de medidas repetidas.

De acuerdo al análisis estadístico, el biopolímero obtenido con el sustrato cáscara de tuna presentó diferencias significativas con cáscara de naranja, mientras que los demás sustratos no presentaron diferencias significativas entre ellos.

El sustrato pulpa con cáscara de tejocote presenta el mayor rendimiento obtenido durante la experimentación, sin embargo, al no tener la misma concentración de materia orgánica ni estar en base seca, los resultados no son comparables con los demás sustratos (cáscara de naranja, olote, cáscara de plátano, cáscara de tuna y sacarosa).

7.4. Microscopía electrónica de barrido.

La microestructura de cada biopolímero purificado y producido con los diferentes sustratos se muestra en las **Figuras 37, 38, 39, 40, 41 y 42**, estas fueron tomadas en un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-6010LA a 500x, 15kV y 18mm.

A modo de ejemplo en la **Figura 37** se muestra la microscopía electrónica de barrido de un polímero sintético (HDPE) y de un polihidroxicanoato.

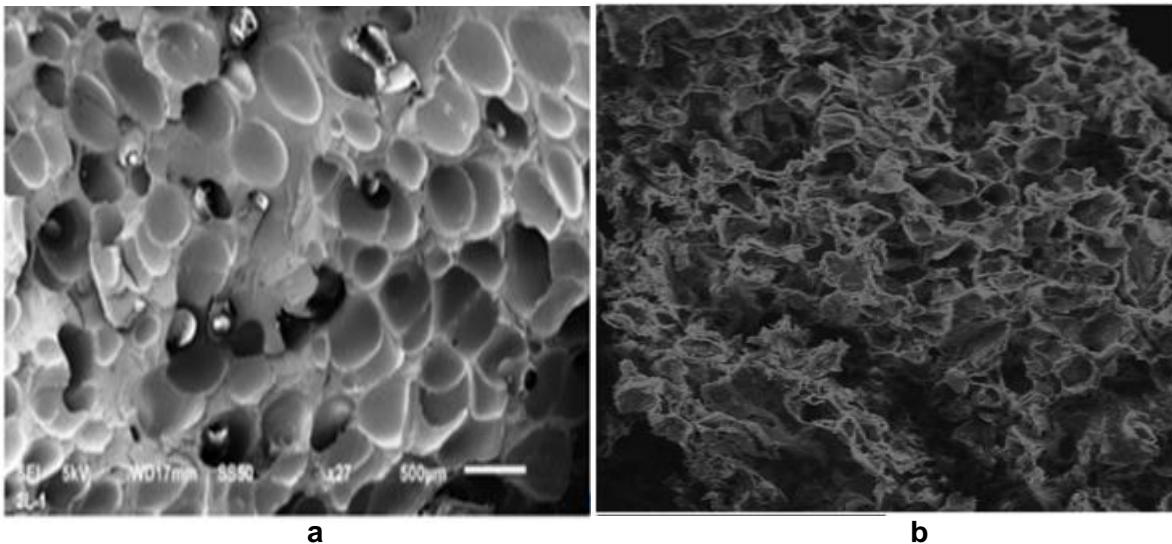


Figura 37. Micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido. a) Polietileno de alta densidad (HDPE) b) Polihidroxicanoato (PHA).

En la **Figura 38** se presentan dos imágenes tomadas al biopolímero utilizando como fuente de carbono cáscara de naranja, a las siete semanas se observa aún como el sustrato no se encuentra completamente transformado, ya que se ven protuberancias a diferencia del biopolímero observado a las diez semanas, donde se distingue una película más uniforme lo cual es congruente con sus características mecánicas que lo hacen más resistente.

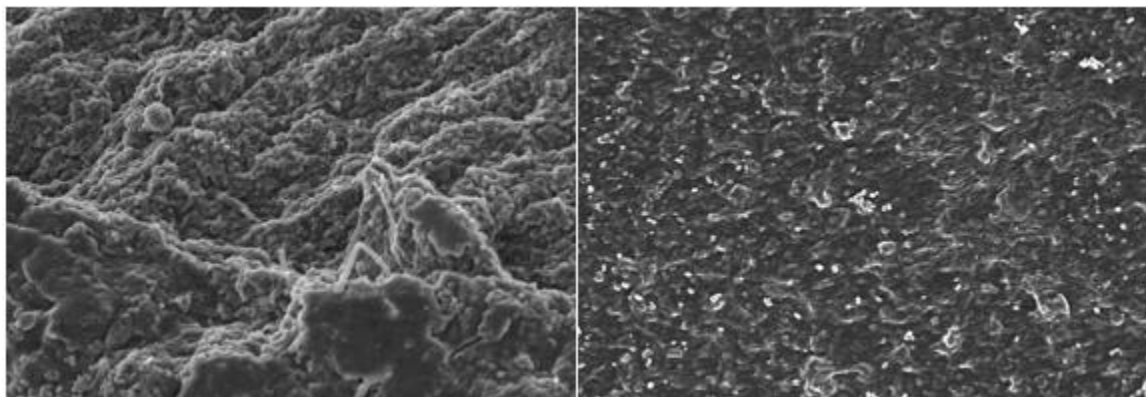


Figura 38. Micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido del biopolímero formado durante siete y diez semanas de producción utilizando como fuente de carbono cáscara de naranja.

En la **Figura 39** se presentan dos micrografías del biopolímero formado a cinco semanas y diez semanas utilizando como sustrato olote, donde se observa que no hay diferencias significativas entre ambas, ya que las dos presentan una estructura amorfa a diferencia del sustrato anterior. Esto se ve reflejado en las propiedades mecánicas del biopolímero, ya que este es el que presenta menor resistencia.

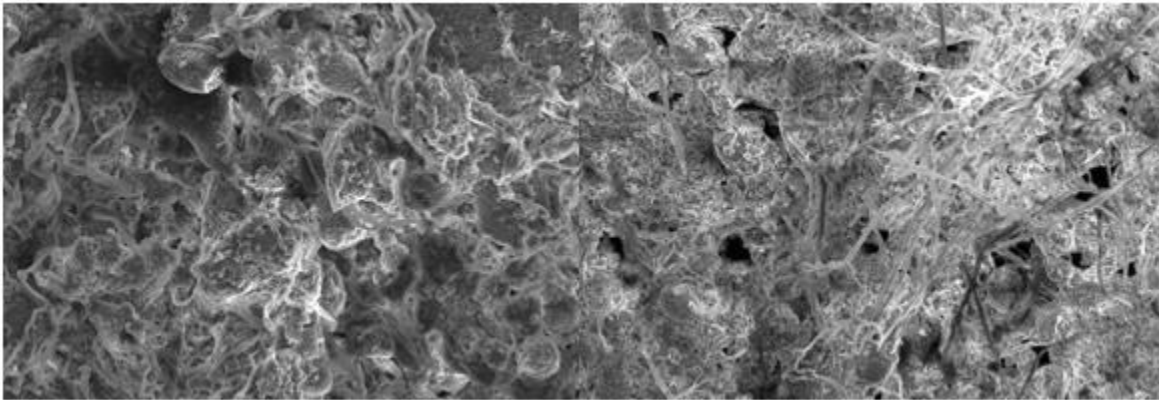


Figura 39. Micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido del biopolímero formado durante cinco y diez semanas de producción utilizando como fuente de carbono olote.

Las micrografías del biopolímero utilizando como sustrato cáscara de tuna se observan en la **Figura 40** a las cinco y diez semanas respectivamente, sin embargo, con este sustrato se observa una tendencia diferente, ya que a las cinco semanas se aprecia una estructura más compacta a diferencia de la semana diez, esto pudiera deberse a que los microorganismos que producen biopolímeros poseen enzimas despolimerasas que al encontrarse faltos de nutrientes rompen las cadenas del biopolímero para obtener una nueva fuente de carbono. Esto se refleja en sus propiedades quebradizas.

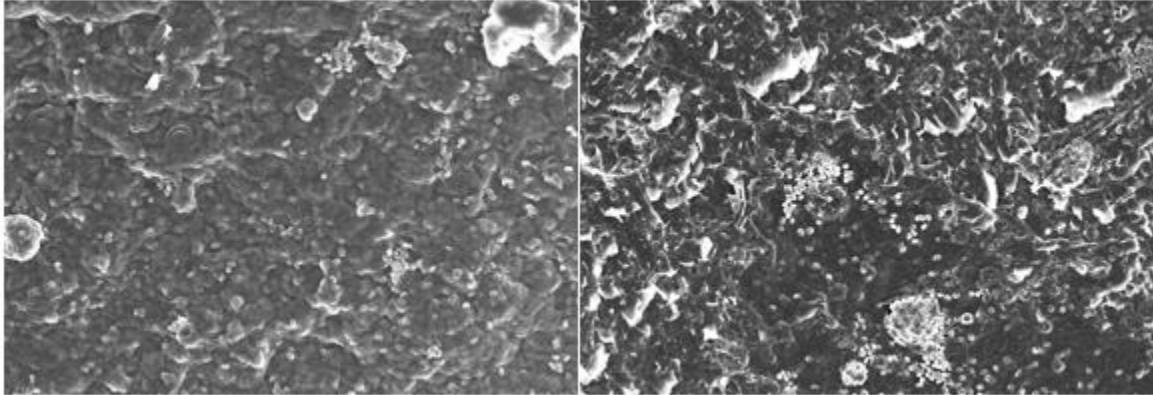


Figura 40. Micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido del biopolímero formado durante cinco y diez semanas de producción utilizando como fuente de carbono cáscara de tuna.

En la **Figura 41** se presentan dos imágenes tomadas al biopolímero utilizando como fuente de carbono pulpa con cáscara de tejocote, a las cinco semanas se observa aún como el sustrato no se encuentra completamente transformado ya que se ven estructuras fibrosas a diferencia del biopolímero observado a las diez semanas, donde se distingue una película más uniforme lo cual es congruente, ya que presenta mayor resistencia mecánica.

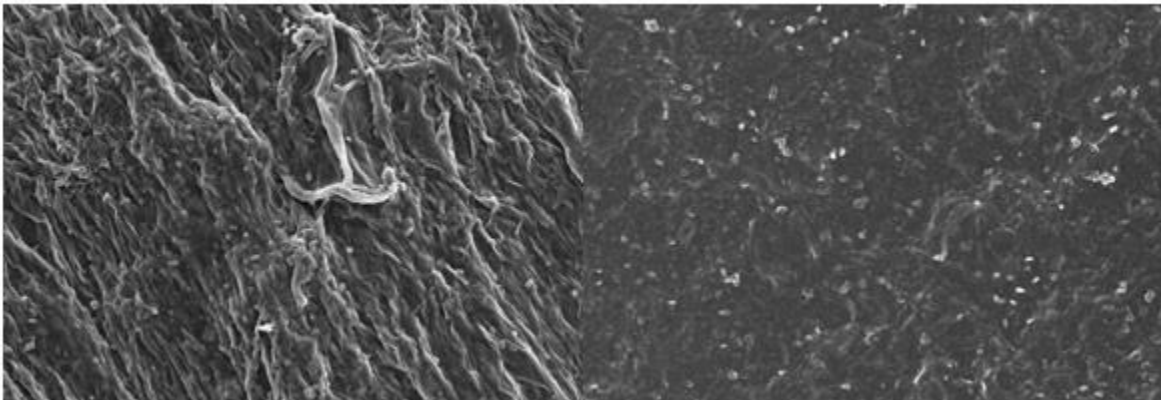


Figura 41. Micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido del biopolímero formado durante cinco y diez semanas de producción utilizando como fuente de carbono pulpa con cáscara de tejocote.

Las micrografías del biopolímero utilizando como sustrato cáscara de plátano se observan en la **Figura 42** a las siete y diez semanas respectivamente, donde el

comportamiento es similar al del biopolímero formado utilizando como sustrato cáscara de tuna, ya que a las cinco semanas se observa una película compacta mientras que a la décima una microestructura fibrosa, de igual manera esto se refleja en sus propiedades quebradizas.

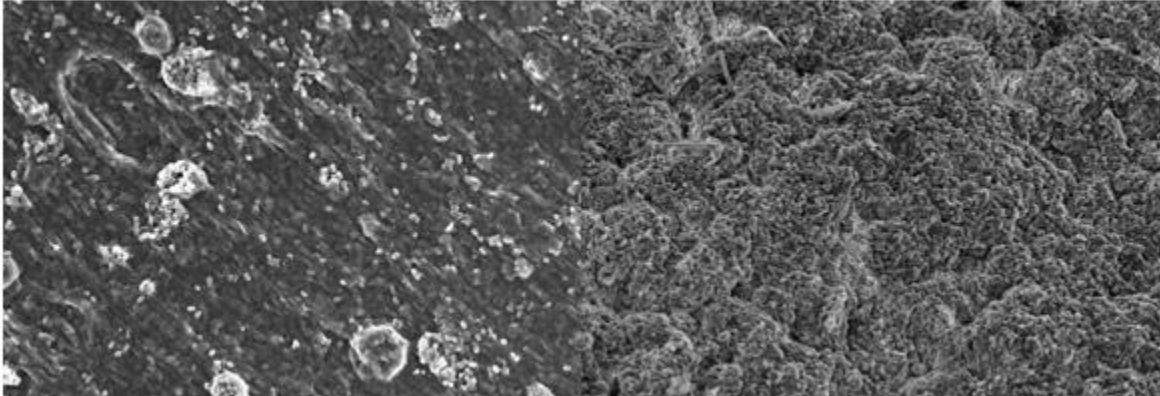


Figura 42. Micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido del biopolímero formado durante siete y diez semanas de producción utilizando como fuente de carbono cáscara de plátano.

En la **Figura 43** se observa el biopolímero utilizando como sustrato sacarosa a la primera y décima semana, en ambas se pueden ver estructuras compactas, sin embargo en la primera semana se aprecia una estructura escamosa, que con el paso del tiempo se biotransforma en una película uniforme. Este biopolímero se caracteriza por ser delgado, resistente y flexible.

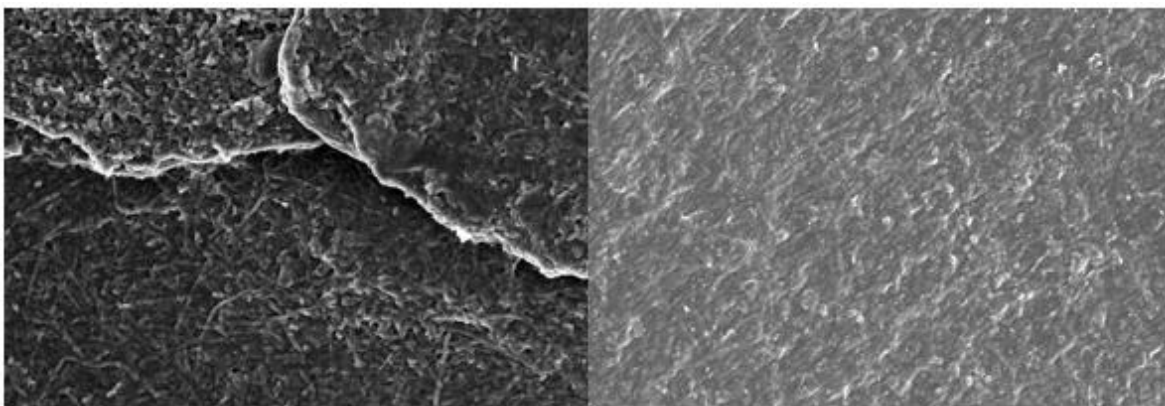


Figura 43. Micrografías tomadas por microscopía electrónica de barrido del biopolímero formado durante una y diez semanas de producción utilizando como fuente de carbono sacarosa.

Cabe mencionar que la microscopía electrónica de barrido se realizó durante diferentes semanas para cada biopolímero, donde el criterio para elegirlos fue su formación, ya que en algunos casos se presentaba muy delgado, por lo que no se tomaron de la misma semana.

7.5. Caracterización del biopolímero.

7.5.1. Pruebas fisicoquímicas.

A los biopolímeros secos se le realizaron las siguientes pruebas preliminares: punto de fusión, solubilidad y combustión. Los resultados de estas pruebas se presentan en la **Tabla 13**. Cabe mencionar que los resultados de las pruebas preliminares fueron iguales para los seis biopolímeros obtenidos a partir de las diferentes fuentes de carbono utilizadas.

Tabla 13. Resultados experimentales obtenidos de las pruebas fisicoquímicas utilizando diferentes fuentes de carbono.	
Pruebas realizadas	Resultado
Observaciones iniciales	Opaco, plástico, quebradizo, no se raya fácilmente, color café oscuro.
Punto de fusión	>250 °C
Combustión	En la flama color rojo, olor dulce y permanece prendido. Fuera de la flama color blanco, olor picante con presencia de cenizas.
Solubilidad	Insoluble en: agua, dimetil sulfóxido, 2-isopropanol, tolueno, hexano, xileno, CCl ₄ , cloroformo, acetato de etilo, acetona.

Todos los biopolímeros presentan características fisicoquímicas iguales al estar secos, como son; el color café oscuro opaco, son quebradizos y no se rayan fácilmente, además se midió el punto de fusión con un equipo Fisher-Johns donde el máximo de temperatura es de 250 °C y a ésta no se alcanzó a fundir.

En las pruebas de combustión observamos que al estar expuesto a la flama permanece prendido con una llama color rojo y al estar fuera se carboniza completamente quedando cenizas.

Además se realizaron pruebas de solubilidad en disolventes polares y no polares, tales como: agua, dimetil sulfóxido, 2-isopropanol, tolueno, hexano, xileno, CCl₄, cloroformo, acetato de etilo y acetona, donde el biopolímero resultó ser insoluble en todos los disolventes probados.

7.5.2. Análisis elemental (CHNS).

Para las siguientes pruebas se utilizó una muestra del biopolímero obtenido del medio con sacarosa a las once semanas por su principal característica de ser flexible y delgado.

En la **Tabla 14** se presentan los resultados obtenidos para la prueba de análisis elemental, donde se observa que el promedio de contenido de Carbono es de 44.5 %, de Hidrógeno de 7.425 %, de Nitrógeno de 1.80 % y de Azufre 0.605 %. Estos valores suman el 54.33 %, donde, el resto podría ser Oxígeno o algunos halógenos presentes en la formulación del medio que no se cuantificaron por este método.

Tabla 14. Resultados experimentales obtenidos a partir del Analizador Elemental Perkin Elmer 2400. Realizado en el Laboratorio de Análisis Elemental, Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria USAII, Facultad de Química-UNAM.				
Cantidad de muestra analizada (mg)	% Carbono	% Hidrógeno	% Nitrógeno	% Azufre
2.606	44.41	7.52	1.82	0.57
2.317	44.59	7.33	1.78	0.64
Promedio	44.50	7.425	1.80	0.605

Cabe mencionar que para el caso del porcentaje de azufre, el valor está por debajo del límite de cuantificación del instrumento (LC 1 % CHNS).

7.5.3. Termogravimetría (TGA) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

En la **Tabla 15** se muestran los resultados obtenidos por el método de Termogravimetría y en la **Tabla 16** los resultados obtenidos a partir de Calorimetría Diferencial de Barrido.

Tabla 15. Resultados experimentales obtenidos a partir del análisis termogravimétrico con equipo Perkin Elmer TGA4000. Realizado en el Laboratorio de Análisis Térmico, Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria USAII, Facultad de Química-UNAM.

Masa inicial de la muestra (mg)	Temp. máxima de la primera transición (°C)	Pérdida de masa de la primera transición (% y mg)	Temp. máxima de la segunda transición (°C)	Pérdida de la masa de la segunda transición (% y mg)	Temp. máxima de la tercera transición (°C)	Pérdida de la masa de la tercera transición (% y mg)	Temp. máxima de la cuarta transición (°C)	Pérdida de la masa de la cuarta transición (% y mg)	Temp. máxima de la quinta transición (°C)	Pérdida de la masa de la quinta transición (% y mg)
3.374	35.71	6.211 y 0.218	54.77	12.929 y 0.436	286.20	8.376 y 0.290	316.84	28.017 y 0.961	390.46	17.241 y 0.582

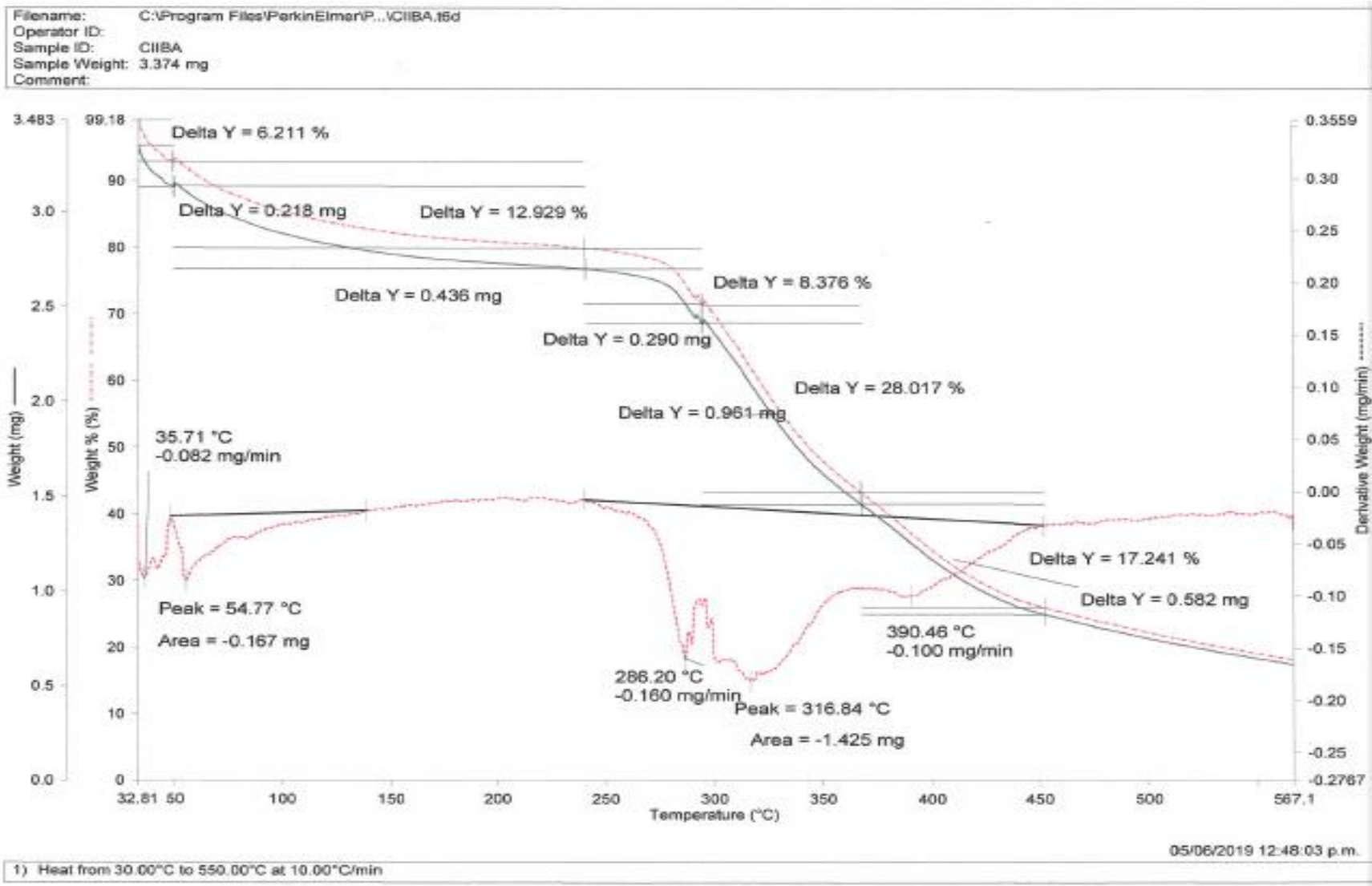
Tabla 16. Resultados experimentales obtenidos a partir de la prueba de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) en un equipo Mettler Toledo DSC1. Realizado en el Laboratorio de Análisis Térmico, Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y a la Industria USAII, Facultad de Química-UNAM.

1ª transición	Temperatura (°C)				
	2ª transición	3ª transición	4ª transición	5ª transición	6ª transición
Inicio de fusión = 31.47 °C Temperatura máxima de fusión = 63.20 °C Temperatura de los dos componentes = 123.82 °C Entalpía = -260.07 J/g	84.52	Transición vítrea 197.52	274.10	416.38	546.67

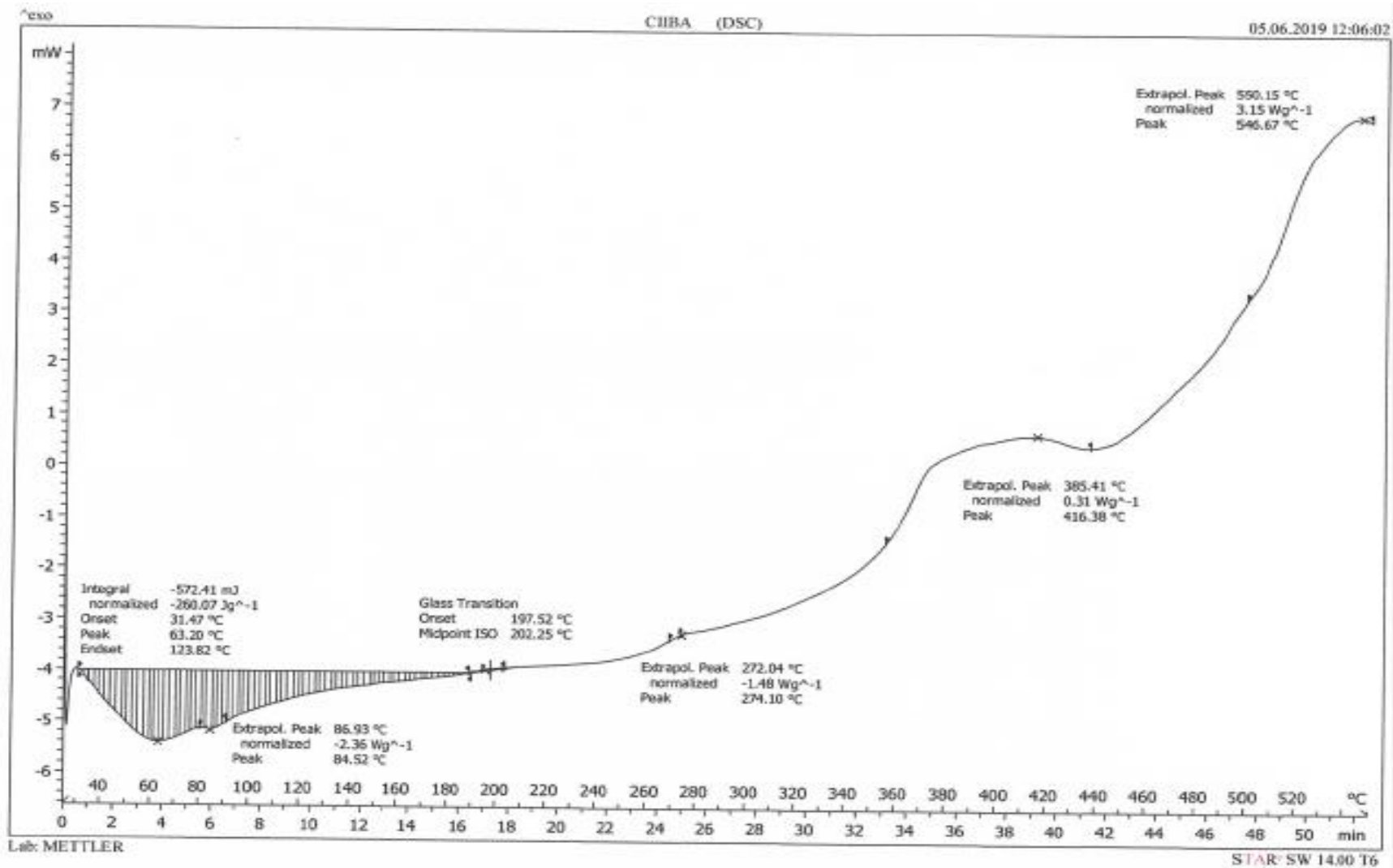
A partir de los resultados presentados en las **Tablas 15** y **16** se realizaron los termogramas presentados en las **Gráficas 8** y **9**.

En la **Gráfica 8** se muestra la curva TGA para la muestra de biopolímero utilizando como sustrato sacarosa. Como se observa presenta una pérdida gradual de peso por calentamiento hasta 150 °C, correspondiente a la eliminación del agua superficial e interlaminar, que equivale aproximadamente a un 19.14 % . La zona fundamental de descomposición tuvo lugar en un intervalo de 250 °C hasta 450 °C, observándose una disminución paulatina del peso; se distinguen en este intervalo tres regiones donde la biomasa pierde 53.634 % entre 250 y 400 °C, con tres picos máximos, uno a 286.20 °C con una pérdida de masa de 8.376%, otro a 316.84 °C donde ocurre la pérdida máxima de masa de 28.017 % y otro a 390.46 °C con una pérdida de masa de 17.241 %.

En la **Gráfica 9** se muestra el termograma DSC para la misma muestra. Como se observa la Temperatura de Transición vítrea (Tg) es de 197.52 °C, lo cual indica que antes de esta temperatura el biopolímero se presenta rígido y quebradizo, y por encima de su Tg es blando y flexible. Analizando la **Gráfica 8** y la **Gráfica 9** se observa que el rango de temperatura de reblandecimiento es después de la Tg y antes del inicio de la descomposición, es decir, entre 200 y 250 °C, sin embargo, se observa que ésta es lenta, ya que se presenta como una leve curva con pendiente positiva hasta los 360 °C que aumenta cerca de los 416 °C hasta los 546 °C, donde, la descomposición provocaría cambios en su estructura, debilitando sus propiedades, cabe mencionar que no se observa el punto de fusión en ninguna de los dos termogramas, por lo que se deduce que el biopolímero no funde en los rangos de temperatura probados (30 – 550 °C) o pasa directo a la descomposición.



Gráfica 8. Termograma realizado a partir del análisis termogravimétrico (TGA). Porcentaje en masa vs temperatura.



Gráfica 9. Termograma realizado a partir del análisis de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). Potencia transmitida vs temperatura.

9. CONCLUSIONES

9. Conclusiones.

En el presente trabajo de investigación se aisló y purificó un microorganismo productor de biopolímero a partir del gorgojo chino (*Ulomoides dermestoides*), el cual se identificó el género por morfología macroscópica y microscópica y se realizó la secuenciación de DNA por la técnica de PCR obteniendo como resultado que el el género y especie del microorganismo es el hongo saprófito *Acrostalagmus luteoalbus*.

Para la producción de biopolímero se formularon diferentes medios de cultivo sólidos, utilizando residuos de tipo orgánico: cáscara de naranja, olote, cáscara de tuna, pulpa con cáscara de tejocote, cáscara de plátano y sacarosa, estandarizando las condiciones óptimas de producción, como son, pH, temperatura condiciones aerobias o anaerobias, presencia o ausencia de luz, etc.

Se evaluó el rendimiento Yp/s para cada sustrato, a lo largo de once semanas de producción, los resultados mostraron que el valor máximo de producción del biopolímero se obtuvo cuando se utilizó pulpa con cáscara de tejocote, seguido de sacarosa, por lo tanto, los objetivos del presente trabajo se cumplieron y la hipótesis se acepta.

Se observó al Microscopio Electrónico de Barrido la estructura de cada biopolímero formado a diferentes semanas de producción y se comparó la microestructura de estos, además se determinaron propiedades fisicoquímicas como la flexibilidad, solubilidad, combustión y punto de fusión. Para caracterizarlo se realizó Análisis elemental (CHNS), Termogravimetría y Calorimetría Diferencial de Barrido solo al biopolímero formado utilizando como sustrato sacarosa por las propiedades flexibles que este presenta.

A la fecha no existen datos que indiquen que *Acrostalagmus luteoalbus* sea productor de algún tipo de biopolímero, por lo que, hace falta realizar más estudios para continuar con la producción, dado que el hongo es resistente, buscando

optimizar el medio de cultivo y otras condiciones de crecimiento que permitan una mayor producción de biopolímero.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

10. Referencias Bibliográficas.

Adeodato Vieira, M., Altenhofen da Silva, M., Oliveira dos Santos, L., & Masumi Beppu, M. (2011). Natural-based plasticizers and biopolymer films: A review. *European Polymer Journal*, 47, 254-263.

AIMPLAS Instituto Tecnológico del Plástico. (Febrero de 2011). *Biopolímeros. Procesabilidad y casos de estudios*. Obtenido de https://www.easyfairs.com/uploads/tx_ef/Presentacion_Chelo_Escrig.pdf

Albertsson, A., Barenstedt, C., & Karlsson, S. (1994). Abiotic degradation products from enhanced environmentally degradable polyethylene. *Acta Polymerica*, 45, 97–103.

Allegrucci, N., Elíades, L., Bucsinszky, A. M., Cabello, M., & Arambarri, A. (2007). Diversidad de anamorfos de Ascomycota en bosques nativos de Celtis Tala (Ulmaceae) en la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot*, 42(1-2), 79-86.

Andrady, A., & Neal, M. (2009). Applications and societal benefits of plastics. *Philosophical transactions of the royal society*, 364, 1977–1984.

Arroyo Orbergoso, A. (2002). *Producción de enzimas pectinasas por actinomicetos en cultivo sumergido utilizando pectina y cáscara de naranja*. Tesis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Obtenido de http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtualdata/Tesis/Salud/Arroyo_O_A/CAP_2.PDF

Artham, T., & Doble, M. (2008). Biodegradation of Aliphatic and Aromatic Polycarbonates. *Macromolecular Bioscience*, 8(1), 14–24.

Atlas, R., & Bartha, R. (1997). *Microbial Ecology: Fundamentals and Applications* (4ta ed.). Menlo Park, CA: Benjamin/Cummings Publishing Company.

Ávila, A. (2017). *Métodos de Caracterización de Polímeros*. Argentina: Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Obtenido de

<http://www.fcq.unp.edu.ar/sitio/fisicoquimica/wp-content/uploads/2017/07/metodos-de-caracterizacion.pdf>

Barlaz, M., Ham, R., & Schaefer, D. (1989). Mass-balance analysis of anaerobically decomposed refuse. *Journal of Environmental Engineering*, 115, 1088–1102.

Barragán, H., Díaz, T., & Laguna, T. (2008). Utilización de residuos agroindustriales. *Revista Sistemas Ambientales*, 2(1), 44–50.

Beg, Q., Kapoor, M., Mahajan, L., & Hoondal, G. (2001). Microbial xylanases and their industrial applications: a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56(3-4), 326-338.

Beltrán Rico, M., & Marcilla Gomis, A. (2012). Estructura y propiedades de los polímeros. En M. Beltrán Rico, & A. Marcilla Gomis, *Tecnología de polímeros* (págs. 3-54). Alicante: Universidad de Alicante.

Bicerano, J. (2002). *Prediction of Polymer Properties*. Michigan, U.S.A.: Marcel Dekker. Inc.

Billmeyer, F. W. (1975). *Ciencia de los polímeros*. España: Reverté, S.A.

Brito, G. F., Agrawal, P., Araújo, E., & Mélo, T. A. (2011). Biopolímeros, Polímeros Biodegradáveis e Polímeros Verdes. *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, 6.2, 127-139.

Campbell, D., Pethrick, R., & White, J. (2000). *Polymer Characterization: Physical techniques* (2da ed.). Reino Unido: Stanley Thornes (Publishers) Ltd.

Carraher Jr., C. E. (2013). *Carraher's Polymer Chemistry*. Nueva York: CRC Press.

Cerezal, P., & Duarte, G. (2005). Utilización de cáscaras en la elaboración de productos concentrados de tuna (*Opuntia ficus indica* (L.) Miller). *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 7, 61-83.

Clavijo, J. (2013). Caracterización de materiales a través de medidas de microscopía electrónica de barrido (SEM). *Revista Elementos*(3), 133-146.

Cowie, J., & Arrighi, V. (2007). *Polymers: Chemistry and Physics of modern materials* (3ra ed.). Reino Unido: CRC Press.

Dotson, N., Galván, R., Laurence, R., & Tirrel, M. (1996). *Polymerization Process Modeling*. U.S.A.: John Wiley & Sons, Inc.

Escuela de Organización Industrial. (30 de Agosto de 2015). *Los hongos: "Plásticos" de nueva generación.* Recuperado el 15 de Agosto de 2019, de <https://www.eoi.es/blogs/redinnovacionEOI/2015/08/30/los-hongos-plasticos-de-nueva-generacion/>

Fernández, M. (2010). α -L-ramnosidasa de *Acrostalagmus luteo-albus*: optimización de la producción, purificación y caracterización. Tesis, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Laboratorio de Procesos Biotecnológicos, Argentina.

Flory, P. (1995). *Principles of Polymer Chemistry* (6ta ed.). U.S.A.: Cornell University.

Franco-Mora, O., Aguirre-Ortega, S., Morales-Rosales, E., González-Huerta, A., & Gutiérrez-Rodríguez, F. (2010). Caracterización morfológica y bioquímica de frutos de tejocote (*Crataegus mexicana* DC.) de Lerma y Ocoyoacac, México. *Ciencia Ergo Sum*, 17(1), 61-66.

García Quiñónez, A. (2015). *Obtención de un polímero biodegradable a partir de almidón de maíz*. Santa Tecla: Escuela de Ingeniería Química.

Glass, J., & Swift, G. (1989). *Agricultural and Synthetic Polymers, Biodegradation and Utilization*. Washington DC: American Chemical Society.

González García, Y., Meza Contreras, J., González Reynoso, O., & Córdova López, J. (2013). Síntesis y biodegradación de polihidroxicanoatos: plásticos de origen microbiano. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 29(1), 77-115.

Göpferich, A. (1997). *Mechanisms of polymer degradation and elimination*. Amsterdam: Harwood Academic.

Gracia, P. (s.f.). *Cáscara de Plátano*. Recuperado el 02 de Agosto de 2019, de https://www.academia.edu/10285554/Cascara_de_Platano

Granados Cristancho, Y. (2015). Importancia De Los Ensayos TGA y DSC en el Estudio de las Propiedades Térmicas de Mezclas Asfálticas. Bogotá D.C: Universidad Distrital Francisco José De Caldas.

Griffin, G. (1980). Synthetic polymers and the living environment. *Pure and Applied Chemistry*, 52, 399–407.

Gu, J., Ford, T., Mitton, D., & Mitchell, R. (2000). *Microbial corrosion of metals*. In: *Revie W, editor. The Uhlig Corrosion Handbook* (2da ed.). New York: Wiley.

Gupta, U., & Kar, R. (2008). Optimization and Scale up of Cellulase free Endo xylanase Production by Solid State Fermentation on Corn cob and by Immobilized Cells of a Thermotolerant Bacterial Isolate. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 1(3), 129-134.

Hamilton, J., Reinert, K., Hogan, J., & Lord, W. (1995). Polymers as solid waste in municipal landfills. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 43, 247–251.

Hermida, É. (2011). Polímeros . En *Colección materiales y materias primas*. Argentina: Instituto Nacional de Educación Tecnológica.

IUPAC. (1997). *Compendium of Chemical Terminology (the "Gold Book")*. Oxford: Blackwell Scientific Publications. doi:10.1351/goldbook.

Jayasekara, R., Harding, I., Bowater, I., & Lornerngan, G. (2005). Biodegradability of selected range of polymers and polymer blends and standard methods for assessment of biodegradation. *Journal of Polymers and the Environment*, 13, 231–251.

Joel, F. (1995). *Polymer Science and Technology* (3ra ed.). New Jersey: Prentice Hall.

Kamal, M., & Huang, B. (1992). *Natural and artificial weathering of polymers*. New York: Marcel Dekker.

Kathiresan, K. (2003). Polythene and Plastics-degrading microbes from the mangrove soil. *Revista de Biología Tropical*, 51, 3-4.

Kawai, F. (1995). Breakdown of plastics and polymers by microorganisms. *Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology*, 52, 151–194.

Kozlov, Y. (1986). *Ciencia de los materiales*. URSS: Mir Moscu.

Lee, S. (1996). Bacterial polyhydroxyalkanoates. *Biotechnology and Bioengineering*, 49, 1-14.

Lemos Delgado , A. C., & Mina Cordoba, A. (2015). Polihidroxiálcanoatos (PHA) producidos por bacterias y su posible aplicación a nivel industrial. *Informador Técnico*, 79(1), 93-101.

Llorens, V., Martín, M., & Hidalgo, E. (1997). PCR: Una nueva herramienta para el estudio de hongos ectomicorrícicos. *Revista catalana de micologia*, 20, 187-198.

López Serrano Ramos , F., Mendizábal Mijares, E., & Ortega Gudiño , P. (2015). *Introducción a la Ciencia de los Polímeros*. Guadalajara, Jalisco: Universidad de Guadalajara.

Malagón Micán , M. L., López López , S. M., & Martínez Hernández , Á. T. (2017). Síntesis de bioplásticos a partir de microorganismos. *Semilleros: Formación Investigativa*, 3(1), 127-135.

Mamma, D., Kourtoglou, E., & Christakopoulos, P. (2008). Fungal multienzyme production on industrial by-products of the citrus-processing industry. *Bioresource Technology*, 99, 2373-2383.

Martinez-Fernandez de Lara, E., Navarro Cruz, A., Vera-López, O., & Ávila Sosa Sánchez, R. (2017). Caracterización Físicoquímica de desechos de naranja (*Citrus Sinensis*) y lechuga (*Lactuca Sativa*). *Revista de Energía Química y Física*, 4(10), 49-56.

Marvel, C. (1963). *Introducción a la Química Orgánica de las macromoléculas de síntesis*. España: Reverté S.A.

Mostafa, N., Farag, A., Abo-dief, H., & Tayeb, A. (2018). Production of biodegradable plastic from agricultural wastes. *Arabian Journal of Chemistry*, 11, 546-553.

Mueller, R. (2006). Biological degradation of synthetic polyesters—enzymes as potential catalysts for polyester recycling. *Process Biochemistry*, 41(10), 2124–2128.

Neuza, J., Da Silva, A., & Aranha, C. (2016). Antioxidant activity of oils extracted from orange (*Citrus sinensis*) seeds. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 88(2), 951–958.

Odian, G. (2004). *Principles of polymerization*. U.S.A.: John Wiley & Sons, Inc.

Olayan, H., Hamid, H., & Owen, E. (1996). Photochemical and thermal crosslinking of polymers. *Journal of Macromolecular Science*, 36, 671–719.

ONU. (2018). EL ESTADO DE LOS PLÁSTICOS: Perspectiva del día mundial del medio ambiente. Organización de las Naciones Unidas.

Perdomo M., G. (2002). Plásticos y medio ambiente. *Revista Iberoamericana Polímeros*, 3(2).

Pérez Rodríguez, L. (2010). *Biopolímeros como una alternativa de sustitución de polímeros sintéticos*. Ciudad de México: Instituto Politécnico Nacional. Obtenido de <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/24982/Biopolimeros%20como%20una%20alternativa%20de%20sustitucion%20de%20polimeros%20sinteticos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Pospisil, J., & Nespurek, S. (1997). Highlights in chemistry and physics of polymer stabilization. *Macromolecular Symposia*, 115, 143–163.

Reynoso, S. (2018). *Los polímeros plásticos*. México: Amazon Digital Service LLC.

Rivard, C., Moens, L., Roberts, K., Brigham, J., & Kelley, S. (1995). Starch esters as biodegradable plastics: Effects of ester group chain length and degree of substitution on anaerobic biodegradation. *Enzyme and Microbial Technology*, 17, 848–852.

Robledo Olivo, A., Aguilar, C., & Montañez Sáenz, J. (2012). Uso del olote de maíz como sustrato microbiano para la obtención de xilanasas. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 4(7).

Rudin, A., & Choi, P. (2013). *The Elements of Polymer Science and Engineering* (3ra ed.). U.S.A.: Elsevier.

Saha, B. (2003). Hemicellulose bioconversion. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 30, 279-291.

Saha, B., & Bothast, R. (1999). Pretreatment and enzymatic saccharification of corn fiber. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 76, 65-77.

Sánchez Moreno , S. A., Marín Montoya , M. A., Mora Martínez, A. L., & Yepes Pérez, M. (2012). Identificación de bacterias productoras de polihidroxialcanoatos (PHAs) en suelos contaminados con desechos de fique. *Rev. Colomb. Biotecnol.*, XIV(2), 89-100.

Scott, G. (1999). Polymers in modern life. Polymers and the Environment. *The Royal Society of Chemistry*.

Secretaría de Agricultura, ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (Octubre de 2015). *Plan de manejo de residuos generados en actividades agrícolas primera etapa: diagnóstico nacional*. Recuperado el 02 de Agosto de 2019, de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/346978/Manejo_de_residuos_Detallado.pdf

Segura, D., Noguez, R., & Espín, G. (2007). Contaminación ambiental y bacterias productoras de plásticos biodegradables. En *Biotecnología* (Vol. 14, págs. 361-371).

Seidel, A. (2008). *Characterization and Analysis of Polimers*. U.S.A.: John Wiley & Sons, Inc.

SEMARNAT. (2015). Informe de la Situación del Medio Ambiente en México: Compendio de estadísticas ambientales. Ciudad de México: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Humanos.

Seymour, R. (1989). Polymer Science Before and After 1899: Notable Developments During the Lifetime of Maurits Dekker. *Journal of Macromolecular Science*, 26, 1023-1032.

Shah, A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*(26), 246–265.

Shimao, M. (2001). Biodegradation of plastics. *Current Opinion in biotechnology*, 12(3), 242-247.

Sumaya-Martínez, M., Suárez Diéguez, T., Cruz Cansino, N., Alanís García, E., & Sampedro, J. (2010). Innovación de productos de alto valor agregado a partir de la tuna mexicana. *Revista Mexicana de agronegocios*, 27, 435-441.

Swift, G. (1997). *Non-medical biodegradable polymers: environmentally degradable polymers*. Amsterdam: Harwood Academic.

Tuñón, I., Gómez, C., Ortí, E., Pascual-Ahuir, J. L., & Monzó, I. S. (2010). *Química Física Avanzada*. Valencia : Universidad de Valencia, Open course ware.

Universidad de Burgos. (3 de Julio de 2019). Microanálisis Elemental (CHNS). Recuperado el 9 de Octubre de 2019, de <https://www.ubu.es/parque-cientifico-tecnologico/servicios-cientifico-tecnicos/analisis-elemental/microanalisis-elemental-chns>

Uribe Velasco, M. (2007). *Los polímeros*. Ciudad de México: Instituto Politécnico Nacional.

Valero-Valdivieso, M. F., Ortegón, Y., & Uscategui, Y. (octubre de 2013). Biopolímeros: Avances y Perspectivas. *Dyna*(181), 171-180. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/dyna/v80n181/v80n181a19.pdf>

Witt, U., Muller, R., & Deckwer, W. (1997). Biodegradation behavior and material properties of aliphatic/aromatic polyesters of commercial importance. *Journal of Polymers and the Environment*, 15, 81–89.

11. ANEXOS

Anexo 1.

CARACTERIZACIÓN DE POLÍMEROS Y BIOPOLÍMEROS.

Composición química y microestructura.

- **Análisis elemental:** permite conocer la composición química, al determinar el contenido total de carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre (C, H, N y S) presente en muestras de tipo orgánicas e inorgánicas.
- **Resonancia magnética nuclear de alta resolución:** determina estructura de moléculas orgánicas (ramificaciones y secuencia en copolímeros).
- **Espectroscopía infrarrojo por transformada de Fourier:** se emplea en la caracterización de diferentes compuestos para identificar los grupos funcionales presentes en la muestra (**Figura 44**). Esta técnica es sensible a la estructura ya que reflejan las vibraciones características de los grupos de átomos como la ramificación y cristalinidad en algunos polímeros (Campbell D et al., 2000).
- **Cromatografía de gases:** análisis de compuestos volátiles en polímeros y formulaciones, caracterización por degradación térmica de polímeros, pureza de monómeros y solventes así como la identificación de aditivos volátiles.



Figura 44. Espectrómetro de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR).

Pesos moleculares y su distribución.

- **Osmometría de membrana:** depende de las propiedades coligativas, es decir, del número de partículas, la medida de esta presión (osmometría) podrá aplicarse a la determinación de la presión osmótica de disolventes en relación con disoluciones de polímeros (Campbell D et al., 2000).
- **Dispersión de la luz:** en disoluciones y mezclas de líquidos aparecen dispersiones de la luz adicionales a cambios irregulares de la densidad y el índice de refracción, debido a las fluctuaciones de composición, por lo que se observan parámetros estadísticos de tamaño, además de la determinación de ramificaciones.
- **Ultracentrifugación:** método por el cual se separan sólidos de líquidos de diferente densidad mediante fuerza centrífuga por lo que se obtiene el promedio del peso molecular.
- **Viscosimetría de soluciones:** medida del tamaño o extensión espacial de las moléculas de polímero, ésta se relaciona empíricamente al peso molecular de los polímeros lineales.
- **Cromatografía de permeación en gel:** potente técnica de separación que se produce como consecuencia de la diferente penetración de las macromoléculas a través de los poros de un gel dispuesto en el interior de una columna cromatográfica por lo que se obtiene el promedio del peso molecular (**Figura 45**).
- **Ebulloscopia y crioscopia:** estos métodos basados en la ley de Raoult, dependen de la sensibilidad de la termometría disponible (Rudin A et al., 2012). El peso molecular numeral promedio se basa en la ecuación de Clasius-Clapeyron utilizando la elevación del punto de ebullición y la disminución del punto de congelación (ΔT).



Figura 45. Equipo para cromatografía de permeación de gel (GPC).

Orden en estado sólido y estructura.

- **Microscopio electrónico de barrido (SEM):** técnica de caracterización superficial no destructiva que proporciona información morfológica y de composición química del polímero. Detalle y rapidez en la adquisición de las micrografías de superficie (**Figura 46**).
- **Microscopía electrónica de transmisión:** permite la observación, caracterización y estudio de la estructura y morfología de muestras sólidas poliméricas mediante la difracción de un haz de electrones, para determinar su efecto sobre las propiedades físicas y térmicas. Permite realizar estudios sobre la estructura de la dispersión de arcillas en nanocompuestos y sobre la degradación enzimática de muestras poliméricas.
- **Difracción de rayos X:** se pueden identificar y cuantificar las fases cristalinas presentes en una muestra determinada, además de calcular dimensiones de cristales y la orientación de la red cristalina en estructuras anisotrópicas.



Figura 46. Equipo para microscopía electrónica de barrido (SEM).

Comportamiento térmico.

- **Calorimetría diferencial de barrido (DSC):** medición de la temperatura de transición, calores específicos y calores de transición o de reacción para todos los materiales no volátiles. La temperatura de transición vítrea se da cuando comienza el movimiento de los segmentos del polímero.
- **Análisis Termogravimétrico:** se basa en los cambios de masa como resultado de una variación de temperatura o por someter un material a una temperatura establecida durante un periodo definido. Los cambios de masa identificados permiten determinar bajo qué condiciones los materiales se descomponen.

- **Análisis Termomecánico (TMA):** técnica que permite conocer la composición, estructura, condiciones de producción o posibilidades de aplicación para distintos materiales en función de la temperatura y/o tiempo bajo una fuerza mecánica definida.
- **Análisis Dinamico mecánico:** registra las propiedades viscoelásticas que dependen de la temperatura y determina el módulo de elasticidad y los valores de amortiguación mediante la aplicación de una fuerza de oscilación en la muestra (**Figura 47**).



Figura 47. Equipo para análisis dinámico mecánico.

Anexo 2.

PROCESAMIENTO DE BIOPOLÍMEROS

Extrusión.

Se utiliza un transportador de tornillo helicoidal. El polímero es transportado desde la tolva, a través de la cámara de calentamiento, hasta la boca de descarga, en una corriente continua. A partir de gránulos sólidos, el polímero emerge de la matriz de extrusión en un estado blando. Como la abertura de la boca de la matriz tiene la forma del producto que se desea obtener, el proceso es continuo. Posteriormente se corta en la medida adecuada para producir formas sólidas, películas, láminas, tubos y bolsas plásticas (**Figura 48**). La extrusión puede ser empleada también para recubrir alambres y cables.

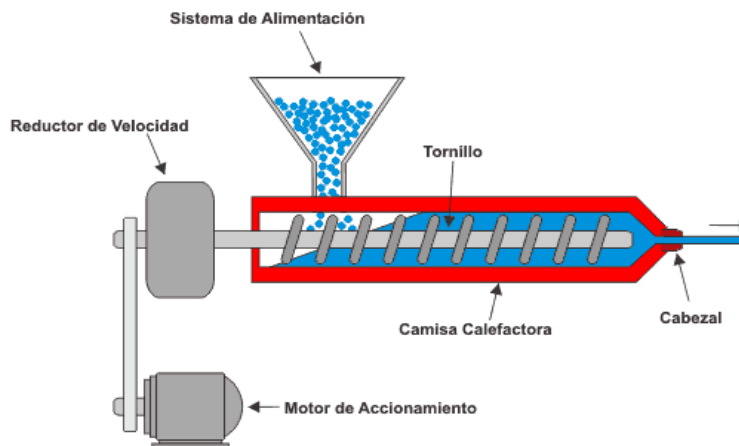


Figura 48. Diseño genérico de un extrusor.

Extrusión por soplado.

Es un proceso (**Figura 49**) usado para hacer formas huecas (botellas, recipientes). Un cilindro plástico de paredes delgadas es extruido y luego cortado en el largo que se desea. Luego el cilindro se coloca en un molde que se cierra sobre el polímero ablandado y le suprime su parte inferior cortándola. Una corriente de aire o vapor es insuflado por el otro extremo y expande el material hasta llenar la cavidad. El molde es enfriado para el fraguado.

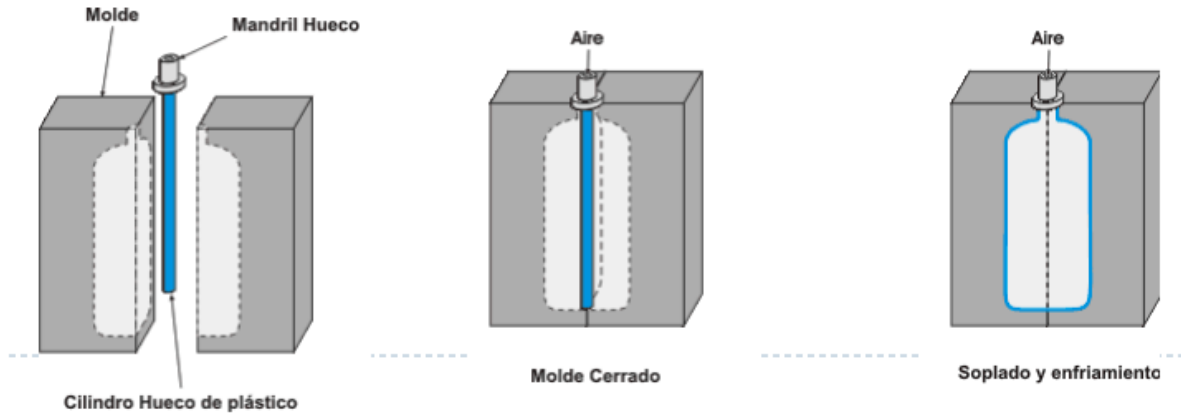


Figura 49. Proceso de extrusión por soplado.

Moldeo por inyección.

Es un proceso semicontinuo que consiste en inyectar un polímero en estado fundido en un molde cerrado a presión y frío, a través de un orificio pequeño llamado compuerta (**Figura 50**). En ese molde el material se solidifica, comenzando a cristalizar en polímeros semicristalinos. La pieza o parte final se obtiene al abrir el molde y sacar de la cavidad la pieza moldeada.

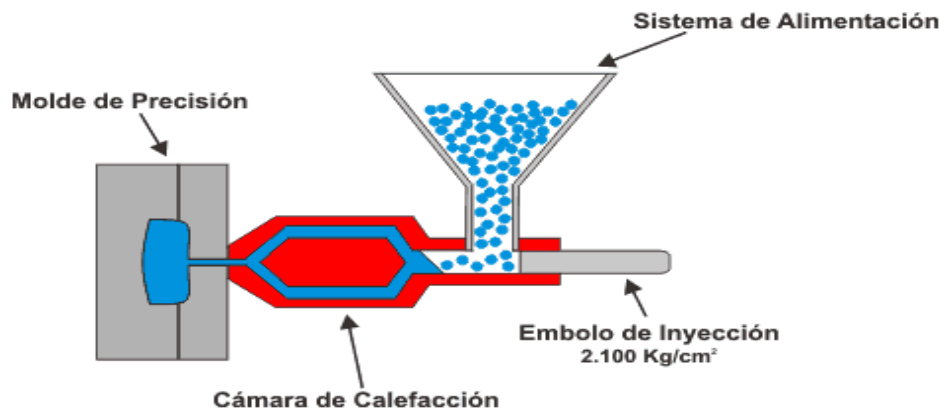


Figura 50. Diseño genérico para moldeo por inyección.

Termoconformado.

Mediante este proceso se comprime una chapa de resina termoplástica ablandada por el calor contra un molde frío. La chapa toma y conserva la forma del molde (Figura 51). Este método se emplea para revestimientos interiores (puertas de heladeras, gabinetes, etc.)

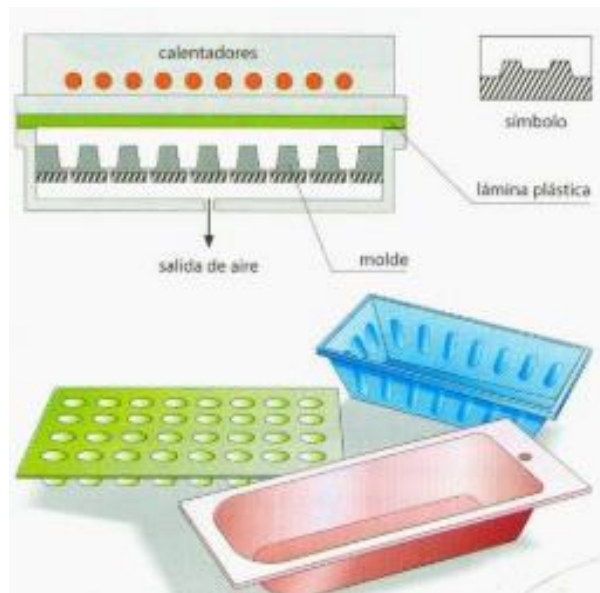


Figura 51. Proceso de termoconformado.

Hilado de fibras.

Proceso de manufactura para elaborar fibras de un polímero. Es una forma especializada de extrusión que utiliza una hiladora para formar múltiples filamentos continuos, este método se utiliza para elaborar fibras sintéticas para varias industrias.

Existen 3 tipos principales de hilado de fibra:

- **Hilado por fusión:** En este proceso, se utiliza polímero ya fundido o fundiendo el polímero en forma de gránulos. A la salida del dado de extrusión,

los filamentos se enfrían ya sea en agua, al aire o con rodillos enfriadores. Los filamentos pueden juntarse o trenzarse para formar un hilo (**Figura 52**).

- **Hilado en solución:** El polímero es disuelto en una solución para hacerlo líquido en lugar de fundirlo. Las dos formas principales de hilado en solución son: seco y húmedo.
 - ✓ En el hilado en solución en seco, el polímero es disuelto en un solvente volátil. Una vez disuelto, el polímero en solución es extruido a través de una hiladora rodeada por una torre secadora. La solución pasa por un proceso de secado, en donde el solvente es evaporado.
 - ✓ En el hilado en solución en húmedo, el polímero es disuelto en un solvente no volátil. La hiladora, colocada en un baño coagulante, provoca que la fibra se precipite. El líquido en el baño coagulante se selecciona para que el solvente se solubilice en él pero el polímero no. Esto permite que el polímero se precipite y forme los filamentos sólidos que se requieren. El solvente puede recuperarse al término del proceso.
- **Hilado por reacción:** Este proceso involucra la reticulación de monómeros o pre polímeros para crear un nuevo polímero utilizando reacción en cadena extendida. El hilado por reacción se usa para reticular un polímero flexible con uno rígido, obteniendo una fibra resistente, durable y estirable (Reynoso S., 2018).

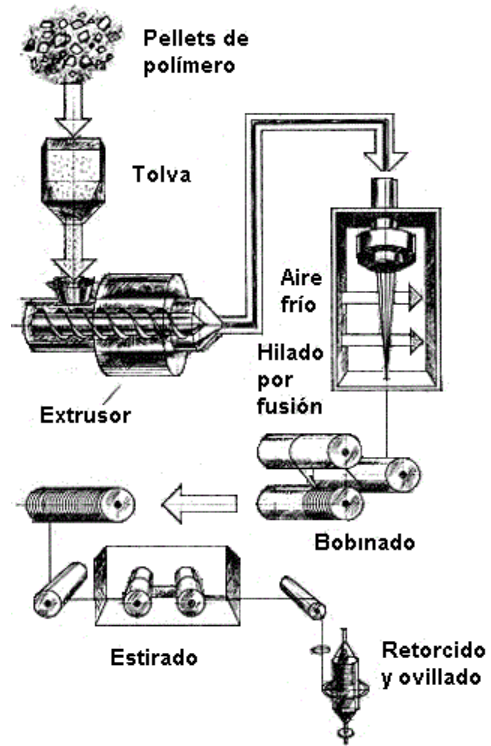


Figura 52. Hilado por fusión.

Anexo 3.

FUNDAMENTO DE LAS TÉCNICAS UTILIZADAS.

Técnica de biología molecular: PCR

Entre las técnicas de Biología Molecular, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, Polymerase Chain Reaction), desarrollada por Kary Mullis en 1985, ha proporcionado una nueva y apasionante dimensión al estudio de hongos.

La técnica de la amplificación de DNA por PCR reproduce in vitro el proceso de autocopia (replicación) del DNA (en condiciones controladas) que se produce de forma natural en el interior de las células y se pueden obtener muestras a partir de muy pequeñas cantidades del DNA del hongo, que puede proceder, tanto de cultivos como de los cuerpos fructíferos, micelios o micorrizas. Los fragmentos de DNA amplificados por PCR pueden ser analizados mediante una serie de técnicas moleculares complementarias, que permiten establecer patrones únicos y estables, propios de cada organismo, y diferenciar así organismos muy próximos entre sí. Por otro lado, estas técnicas también están siendo utilizadas en sistemática de hongos, ya que permiten deducir relaciones filogenéticas (Llorens V, et al., 1997).

Para comprender dicha técnica, es necesario estar familiarizado con la estructura molecular del DNA y conocer los aspectos fundamentales del proceso de su replicación.

El DNA es un polímero constituido por cuatro elementos básicos, los nucleótidos, cada uno de los cuales es el resultado de la unión de una molécula de desoxirribosa, de otra de ácido fosfórico y una de las cuatro bases nitrogenadas (adenina, citosina, guanina y timina). Los nucleótidos se unen entre sí mediante enlaces fosfodiéster, y pueden llegar a formar largas cadenas. El orden en el que se encuentran situados los nucleótidos (secuencia nucleotídica) a lo largo de las cadenas es la forma en que se halla escrita la información genética del DNA, y se suele indicar utilizando la inicial de la base nitrogenada que da nombre a cada nucleótido: A, C, G y T. En 1954, Watson y Crick describieron la estructura molecular del DNA que corresponde

a una hélice constituida por dos de estas cadenas, unidas entre sí por enlaces débiles (puentes de hidrógeno). Las dos cadenas de una misma molécula de DNA contienen información complementaria: la secuencia de una de las cadenas nos indica la secuencia de la otra, debido a que sólo es posible establecer parejas tipo A-T o C-G.

La replicación del DNA (autocopia) es un proceso (**Figura 53**) por el cual, a partir de un doble filamento de DNA, se obtienen dos dobles cadenas idénticas entre sí e idénticas a la molécula que ha servido de molde. El mecanismo es semiconservativo, ya que la doble cadena original se desdobra en dos filamentos simples, que son copiados fielmente gracias a la complementariedad de bases, mediante unos enzimas denominados polimerasas de DNA. Según la doctrina básica de la Biología Molecular, el DNA dirige la síntesis de las proteínas mediante unos complejos procesos denominados transcripción y traducción. Los caracteres morfológicos de los hongos (tanto los macroscópicos como los microscópicos), que sirven de base para las claves de identificación tradicionales, dependen del funcionamiento de las proteínas sintetizadas de acuerdo con la información contenida en el genoma, si bien su expresión está matizadas por condiciones ambientales como la humedad, el tipo de nutrientes o el sustrato (**Figura 54**).

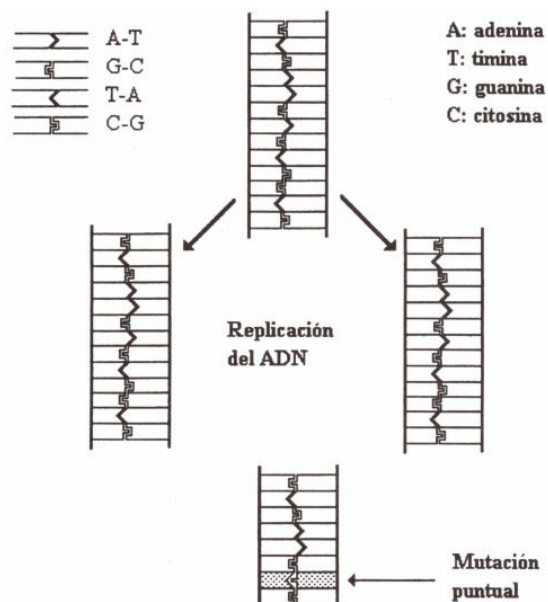


Figura 53. Estructura y replicación del DNA.

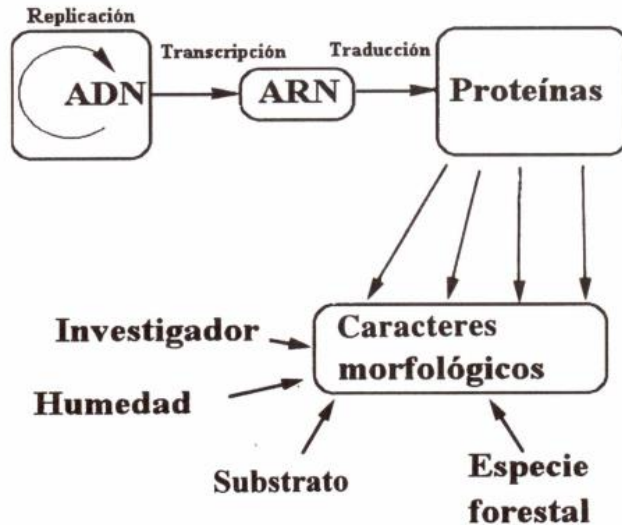


Figura 54. Representación gráfica del flujo de información genética y de los procesos implicados en él. Se observa que los caracteres morfológicos vienen determinados por la expresión del genoma (a través de las proteínas) y modulados por efecto del medio ambiente.

La técnica de PCR se basa en provocar la elaboración de copias de determinadas regiones del genoma (totalidad del DNA de un individuo), que se denominan secuencias diana. Este proceso se denomina amplificación. Esta técnica incluye tres etapas caracterizadas, cada una de ellas, por una temperatura determinada (Llorens V, et al., 1997).

- a) **Desnaturalización del DNA.** Separación, a alta temperatura (superior a los 90°C), de las dos cadenas de la doble hélice. El aumento de la temperatura intensifica la agitación de las moléculas, con lo que éstas se rompen por sus enlaces más débiles (los puentes de hidrógeno) con lo que se separan las dos cadenas de la doble hélice. En un DNA totalmente desnaturalizado todas las cadenas son simples.
- b) **Hibridación de los iniciadores.** Los iniciadores ("*primers*") son pequeñas cadenas de DNA de cadena simple (típicamente de unos 15 a 30 nucleótidos) que han sido diseñados para unirse por complementariedad de bases a

determinadas zonas del genoma. Este proceso se denomina hibridación. Normalmente se utilizan dos iniciadores que se hibridan a los extremos de la secuencia diana y que son complementarios, cada uno de ellos, a uno de los dos filamentos. La hibridación se lleva a cabo disminuyendo rápidamente la temperatura de la mezcla. Al disminuir la temperatura, las cadenas complementarias tenderían a reasociarse, pero debido a la elevada concentración de los iniciadores añadidos a la mezcla de la reacción, la formación de complejos DNA-molde e iniciadores se ve favorecida respecto a la reasociación de las cadenas sencillas. La temperatura a la que se realiza la hibridación depende de la longitud y secuencia de los iniciadores. De estos últimos depende la especificidad de la ampliación.

- c) **Extensión de iniciadores.** Mediante la acción de una polimerasa de DNA, se consigue que el extremo 3'-OH de cada iniciador aumente su longitud utilizando como molde el DNA original y, como materiales de construcción, los cuatro nucleótidos trifosfato. Desde 1989 se utiliza, para esta etapa, una polimerasa que proviene de la arqueobacteria termófila *Thermus aquaticus* (*Taq*-polimerasa) capaz de soportar una y otra vez las altas temperaturas necesarias para la desnaturalización, lo que evita tener que añadir nueva polimerasa en cada ciclo de la ampliación. Por esta razón, la polimerización se realiza a 72 °C, que es la temperatura óptima de funcionamiento de la *Taq*-polimerasa. En esta etapa, es crítica la concentración de Mg^{+1} , un catión decisivo para el correcto funcionamiento de la enzima.

Esta serie de etapas o ciclo elemental se repite sucesivamente entre 20 y 40 veces. Para ello, es necesario disponer de un gran exceso de nucleótidos trifosfato y de iniciadores, en comparación con el de moléculas molde. El gran poder de la PCR reside en que los productos obtenidos (amplímeros), pueden actuar a su vez como molde en los siguientes ciclos. Así, al finalizar el proceso, tendremos las dos cadenas iniciales del DNA cebador inicial y muchos millones de moléculas idénticas a la secuencia diana, ya que el producto de la ampliación, se habrá acumulado

de forma exponencial. Este proceso ha sido automatizado mediante la utilización de un bloque termostático (termociclador), que permite alcanzar las temperaturas características muy de forma rápida y controlada.

El genoma de los hongos como el de la mayoría de los organismos, está organizado en unidades de información (genes), que se pueden transcribir, y cuya traducción a proteínas (que, en general, son enzimas que catalizan reacciones del metabolismo) afecta a la expresión de los caracteres morfológicos. Estas unidades están separadas entre sí por regiones que no se transcriben y/o no se traducen, llamadas regiones intergénicas o regiones no transcritas (Llorens V, et al., 1997).

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La microscopía electrónica de barrido (SEM por sus iniciales en inglés: Scanning Electron Microscopy) es una técnica de análisis topográfico, estructural y composicional que permite la obtención de imágenes ampliamente utilizada en investigación de materiales debido a su alta resolución y capacidades de analizar características morfológicas, estructurales y químicas de las muestras bajo estudio. Dicha técnica se ha usado extensamente en el estudio de tópicos tales como semiconductores, nanopartículas, modificación de productos comerciales, catálisis heterogénea, películas delgadas, física de nanocomposiciones, fotoelectroquímica. Dadas sus posibilidades de resolución, magnificación y versatilidad de variantes permite que sea aplicada a diversidad de muestras, ambientes y necesidades experimentales (procesos térmicos, corrosivos, etc.) (Clavijo J, 2013).

En términos generales, un equipo de SEM es capaz de tomar una “imagen” de la muestra aunque realmente lo que se detecta es la respuesta del material al impacto de un haz de electrones (electrones llamados primarios), en vez de registrar fotones propiamente dichos (como en la microscopía óptica). Al ser impactada por el haz de electrones de alta energía, la muestra produce una serie de señales que son registradas en los diferentes detectores del equipo, en donde cada una de dichas

señales ofrece independientemente información acerca de la topografía, composición y hasta conductividad eléctrica de la muestra. Por supuesto, para adquirir la “imagen” se hace mover el haz en el plano xy (con sistemas ópticos, antes de impactar la muestra) de forma que recorra el área deseada o planificada. La resolución que puede alcanzarse; es decir, la capacidad de distinguir en la imagen entre dos puntos diferentes pero próximos entre sí, en la superficie del material, puede ser tan alta como 2 nm.

La idea básica de funcionamiento de un equipo de SEM es la siguiente: se genera un haz de electrones de alta energía (o electrones incidentes, EI) y se usa un sistema de lentes para focalizar el haz y hacerlo incidir sobre una muestra, la cual generará, a su vez, electrones (llamados secundarios y retrodispersados con siglas SE y BSE, respectivamente) como respuesta al impacto electrónico, y dichos electrones que salen de la muestra son detectados mediante dispositivos EverhartThornley y SED (Solid State Detector) que registran cada uno la cantidad de electrones detectados y lo convierten en una señal digital que se interpreta como intensidad de color, para construir una “imagen” aunque no se usen fotones (Clavijo J, 2013). La **Figura 55** presenta un esquema del equipo, y la **Figura 56** ejemplifica cómo se genera la imagen.

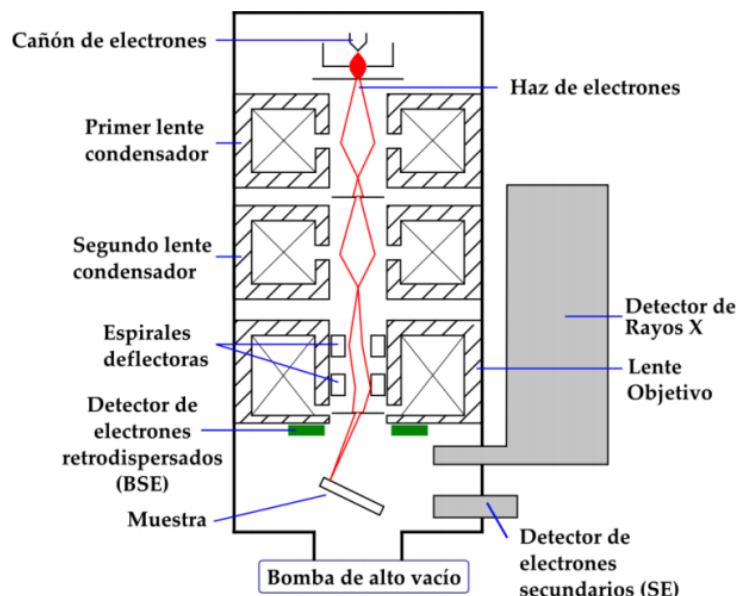


Figura 55. Esquema de un equipo de SEM.

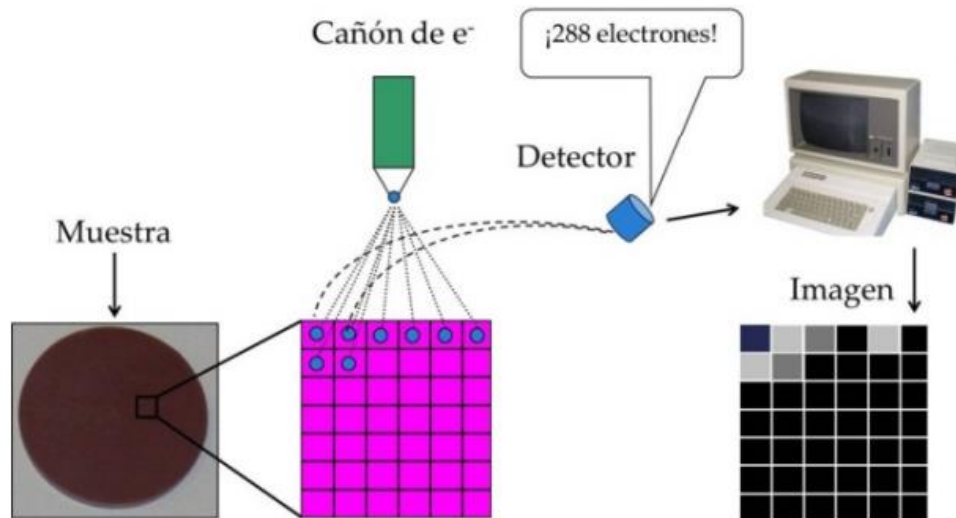


Figura 56. Secuencia del proceso de formación de la imagen. (Clavijo J, 2013).

Análisis elemental (CHNS)

El análisis elemental se emplea para la determinación rápida de carbono, hidrógeno, nitrógeno y azufre, u oxígeno en todo tipo de muestras orgánicas e inorgánicas, sólidas o líquidas, volátiles y no volátiles para obtener el contenido de C, N, H, S y O medido en porcentaje respecto al peso. La técnica de análisis está totalmente automatizada, y se basa en la combustión de las muestras en condiciones óptimas ($T = 950-1100\text{ }^{\circ}\text{C}$, atmósfera de oxígeno puro) para convertir los elementos antes mencionados en gases simples (CO_2 , N_2 , H_2O y SO_2) para conseguir una determinación cuantitativa.

El método analítico se basa en la completa oxidación de la muestra mediante una combustión instantánea. Los gases resultantes de la combustión son transportados mediante un gas portador (He) a través de un horno de reducción. La técnica funciona mediante la utilización de una columna cromatográfica, donde se produce la separación de los distintos elementos, concluyendo con su paso por un detector de conductividad térmica (DCT) que origina una señal directamente proporcional a la concentración de cada uno de los componentes.

Termogravimetría (TGA)

El Análisis por Termogravimetría se define como la técnica en que se mide el porcentaje del peso de una muestra frente al tiempo o a la temperatura mientras se somete a un programa de temperatura controlado en una atmósfera específica. Lo habitual es que se produzca una pérdida de peso, sin embargo también es posible que haya una ganancia de peso en algunos casos. La atmósfera puede ser estática o dinámica con un caudal determinado (también se emplean condiciones de presión reducida) y los gases más habituales son N₂, aire, Ar, CO₂. También se usan H₂, Cl₂, o SO₂.

Una característica fundamental de la técnica TGA es que sólo permite detectar procesos en los que se produce una variación de peso tales como descomposiciones, sublimaciones, reducción, desorción, absorción, mientras que no permite estudiar procesos como fusiones, transiciones de fase.

El equipo utilizado en TGA es principalmente una termobalanza que consta de 5 partes principales (**Figura 57**):

1. Una microbalanza electrónica y su equipo de control.
2. Un horno y los sensores de temperatura, habitualmente un termopar colocado en las proximidades de la muestra pero no en contacto con ella.
3. Un programador de temperatura.
4. Un controlador de la atmósfera (tipo de gas y caudal).
5. Dispositivo para almacenar los datos de peso y temperatura fundamentalmente.

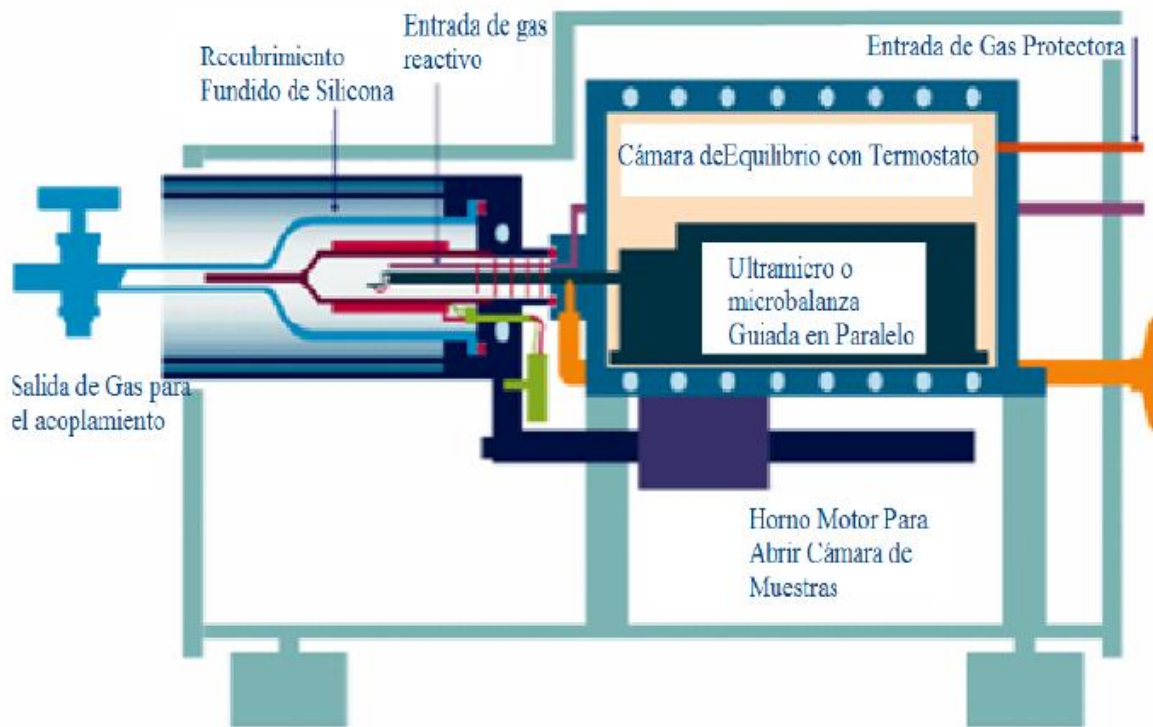


Figura 57. Esquema de TGA.

Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido, es una técnica experimental dinámica que permite determinar la cantidad de calor que absorbe o libera una sustancia, bien cuando es mantenida a temperatura constante durante un tiempo determinado, o cuando es calentada o enfriada a velocidad constante, en un determinado intervalo de tiempo, con la ventaja adicional que actualmente puede ser utilizada en amplios rangos de temperatura que van desde los $-200\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta aproximadamente $800\text{ }^{\circ}\text{C}$. Esta técnica permite el estudio de aquellos procesos en los que se produce una variación entálpica, determinando las temperaturas donde ocurren cambios físicos o químicos, puntos de cristalización y ebullición, entalpías de reacción y determinación de otras transiciones de primer y segundo orden.

En la técnica de Calorimetría Diferencial de Barrido se dispone de dos cápsulas. Una de ellas contiene la muestra a analizar y la otra está vacía y es la llamada

cápsula de referencia. Se usan calefactores individuales para cada cápsula y un sistema de control comprueba si se producen diferencias de temperatura entre la muestra y la referencia. Si se detecta cualquier diferencia, los calefactores individuales regulan el desequilibrio de tal manera que la temperatura se mantendrá igual en ambas cápsulas. Es decir, cuando tiene lugar un proceso exotérmico o endotérmico, el instrumento compensa la energía necesaria para mantener la misma temperatura en ambas cápsulas.

Aunque los principios básicos de esta técnica no son complejos, hay que tener en cuenta que hay numerosas variables involucradas; las variables más importantes se muestran en la **Tabla 17**.

Tabla 17. Variables importantes en la técnica DSC.	
Variables de tipo instrumental	Variables estudiadas en la muestra
<ul style="list-style-type: none"> • Velocidad de calentamiento (enfriamiento) • Geometría de las celdas • Tipo de sensor de temperatura • Tipo de registro de termograma 	<ul style="list-style-type: none"> • Tamaño de la muestra • Grado de división de la muestra • Empaquetamiento • Control de la atmosfera ambiental • Tratamiento físico previo

En la **Figura 58** se muestra un esquema de equipo de DSC, las dos celdas tienen un sensor que permite la medición de temperatura, además de ello poseen una resistencia de calentamiento independiente para cada una, estas mantienen cada una de las muestras a la temperatura programada (T_p). El sistema trabaja de modo que la energía que suministra cada resistencia, es función de la diferencia entre las temperaturas de cada celda y la temperatura programada.

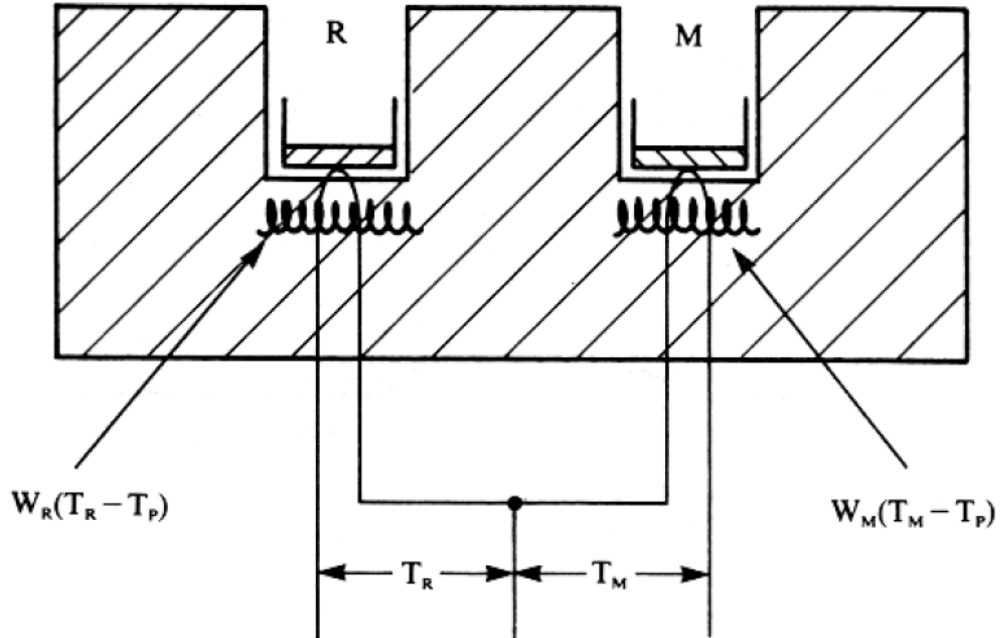
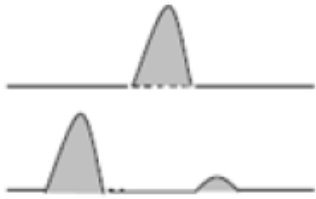
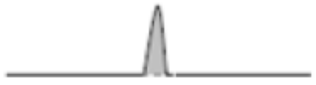




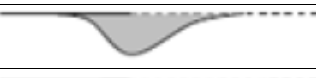


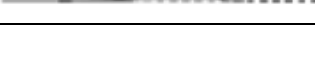


Figura 58. Esquema de un aparato de DSC.

Como se muestra en la **Figura 58**, la celda de DSC es una cámara que contiene una plataforma que tiene dos superficies elevadas para ubicar las capsulas de la muestra y la referencia. A través de esta cámara se hace fluir un gas, que según los propósitos del experimento puede ser inerte u oxidante.

Cabe mencionar que la interpretación de las curvas del termograma se establece de acuerdo a parámetros determinados por el Sistema Nacional de Ensayos que reporta información importante a cerca de las transiciones que sufren los materiales mediante la lectura de las curvas obtenidas, como se muestra en la **Tabla 18**.

Tabla 18. Interpretación de curvas de DSC (Granados Cristancho Y, 2015).

Transformación	Curva de DSC	Tipo de transformación
Fusión múltiple (diferentes fases o tamaños de los cristales, mezcla de polímeros semicristalinos, etc.).		Fusión.
Fusión de un polímero orientado.		
Cristalización en condiciones isoterma.		
Cristalización desde el fundido.		Cristalización.
Cristalización con un calentamiento		
Enfriamiento desde el fundido.		Transición vítrea.
Polimerización.		Otros procesos físico-químicos.
Descomposición.		
Evaporación, sublimación.		
Evaporación en crisol cerrado.		

Anexo 4.

RESULTADOS PCR.

La identificación se realizó por PCR en un microscopio de contraste de fases Nikon eclipse Ni-U y para el tratamiento de la muestra una centrifuga refrigerada BIM-E-003, nanodrop modelo Q3000 y termociclador Select Cyclor II BIM-E-0081, a cargo de la Universidad Autónoma de Chapingo, LANISAF. El microorganismo se identificó como *Acrostalagmus luteoalbus*, el cual posee hifas septadas hialinas, formando un micelio tabicado. Estas hifas suelen ser muy finas y estrechas y su parte especializada, el conidióforo (simple o ramificado), produce fiálides simples o solitarias erguidas, muy largas, separadas de las hifas por un tabique y dispuestas en forma de verticilo alrededor del conidióforo. *Acrostalagmus* forma generalmente conidios unicelulares de forma elíptica alargada, con cierta curvatura central. Estos conidios suelen aparecer en grupos formando agregados, principalmente el ápice de cada fiálide.

La secuenciación de DNA obtenida se presenta en la **Figura 59**.

File: LAN18-BIM-64_ITS4.ab1

Run Ended: 2018/11/6 16:43:27

Signal G:6998 A:7801 C:12413 T:9214

Sample: LAN18-BIM-64_ITS4

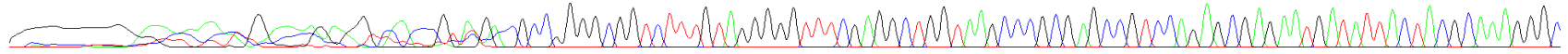
Lane: 14

Base spacing: 15.647893

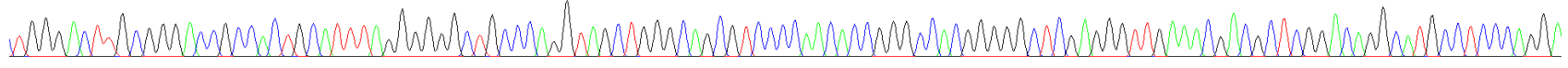
606 bases in 19957 scans

Page 1 of 2

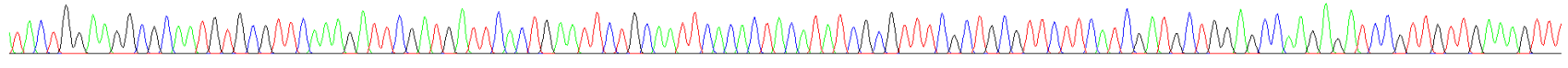
G C A G G A T G C A T T A A C T T G A A T A G A A G G T C C A C C G T A T G A C G C C G G G G C G G T C T T T G T A G G G G G T T C G A G G C T G G T A A G C C C C G C G A G C C G T C C A G A G C G A G A A T G A T A T T A C T A C G C A A A G G G C



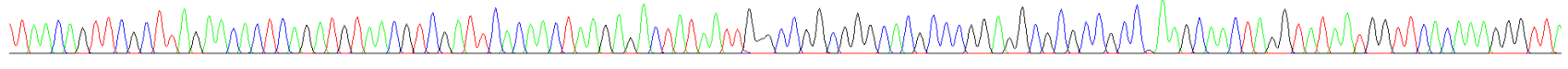
T G G G A C T T G C G G G A C C G C C A C T G C A T T T A G G G G G G C T G C C C A G G T A G C T G G G C A G C G T C C C C A A C A C C G G G C C A C G G G G G C T C G A G G G T T G A A A C G A C G C T C G G A C A G G C A T G C C T C C C A G G A



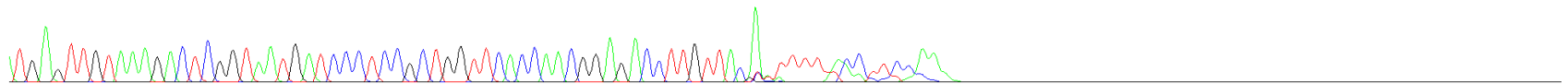
T A C T G G A A G G C G C A A T G T G C G T T C A A A G A T T C G A T G A T T C A C T G A A T T C T G C A A T T C A C A C T A C A T A T C G C G T T T C G T G C G T T C T T C A T C G A T G C T G G A G C C A A G A G A T C C G T T G T T G A A A G T T



T T A A C A G T T C G C T T A G A A C A C T C A G A T G T A A C G T C G A T T C A C A A C T A A G A G A C T A T A A T T G G C C G G C G G G C A C G C C G G A G G C G C C G C C G A A G C A A C T A G G T A T A A T G G T T C A C A A A G G G T T A



T G A G T T G T A A A G A C T C G G T A A T G A T C C C T C C G C T G G T T C A C C A A C G G A G A C C T T T G T T A C A A T T T T A C C C T C C A A A A G G G G G G T T A A G A A A A G A G G G G G G G G T T T G G G



a

File: LAN18-BIM-64_ITSS.ab1

Run Ended: 2018/11/16 16:43:27

Signal G:4108 A:4763 C:9079 T:7499

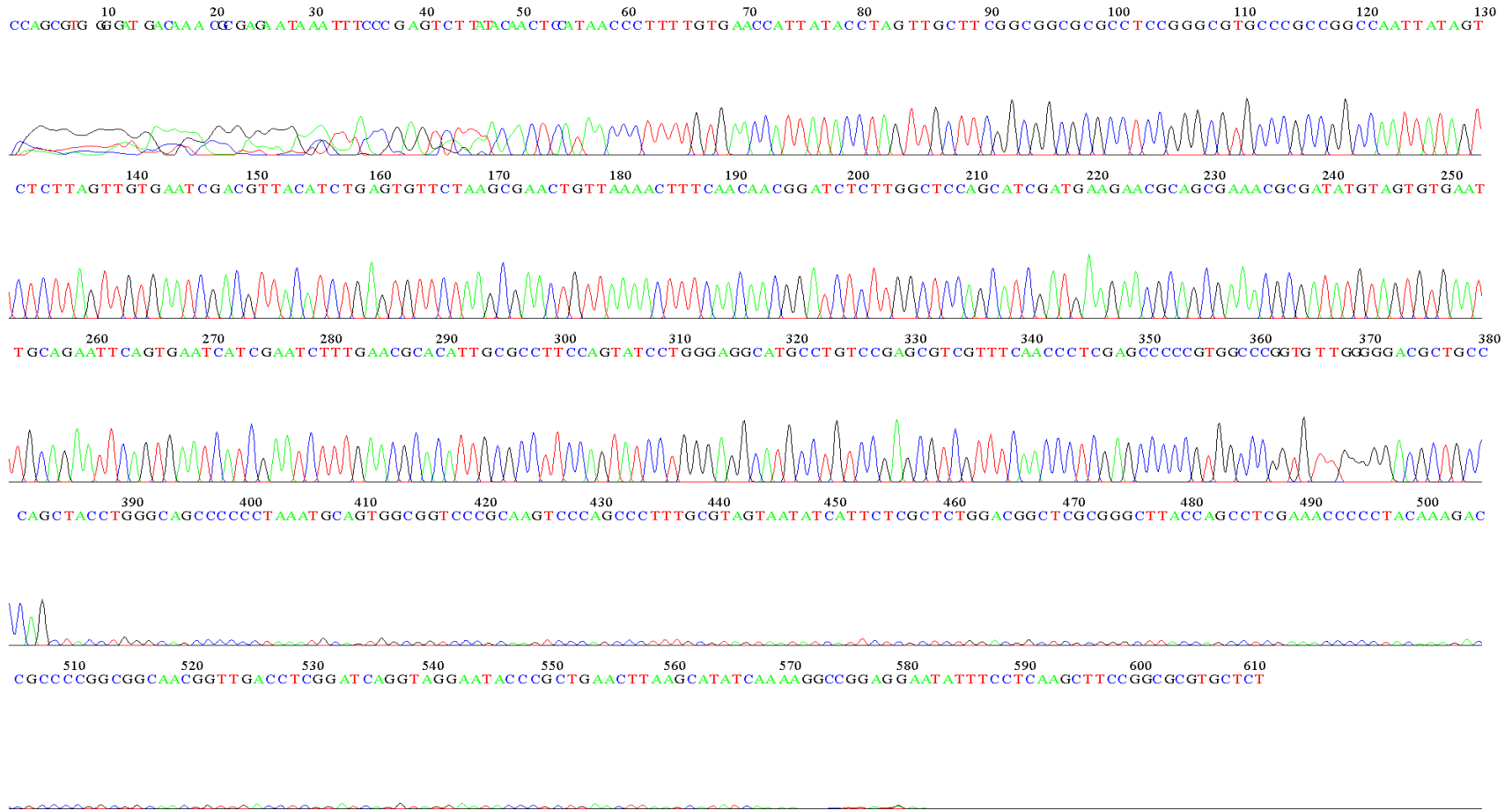
Sample: LAN18-BIM-64_ITSS

Lane: 16

Base spacing: 15.310232

611 bases in 19573 scans

Page 1 of 2



b

Figura 59. a) y b) Resultados experimentales para la secuenciación de DNA.