



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL-RESIDUOS

**“EVALUACIÓN DE UNA TÉCNICA PARA IDENTIFICAR PLÁSTICOS
BIODEGRADABLES, COMPOSTABLES O TÓXICOS CON *Zophobas sp*”**

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:
ERIK SAUL HUIDOBRO MEDINA

TUTOR
DRA. MARÍA NEFTALÍ ROJAS VALENCIA, INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM.

COMITÉ TUTOR
M. EN C. GLORIA MORENO RODRÍGUEZ, INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM.
M. A. I. LANDY IRENE RAMÍREZ BURGOS, FACULTAD DE QUÍMICA UNAM.

CIUDAD DE MÉXICO, DICIEMBRE 2022



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.

JURADO ASIGNADO

Presidente: DRA. GABRIELA ELEONORA MOLLER CHÁVEZ

Secretario: DR. DANIEL DE LOS COBOS VASCONCELOS

1^{er} Vocal: M. EN C. GLORIA MORENO RODRÍGUEZ

2^{do} Vocal: M. A. I. LANDY IRENE RAMÍREZ BURGOS

3^{er} Vocal: DRA. MARÍA NEFTALÍ ROJAS VALENCIA

Lugar donde se desarrolló la tesis:

El trabajo experimental fue realizado en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental (LIA) del Instituto de Ingeniería de la UNAM (Edificio 5) que cuenta con certificado de conformidad otorgado por el organismo acreditado Certificación Mexicana, S.C., por haber implementado y mantener un Sistema de Gestión de la Calidad de conformidad con los requisitos de la norma internacional ISO 9001:2015. No. de Certificado CMX C SGC 209 2020, válido en el período del 12 de noviembre de 2020 al 11 de noviembre de 2023.

Otros laboratorios que apoyaron:

- Laboratorio de Biogeoquímica Ambiental (LABQA) del Instituto de Geografía, UNAM

DRA. MARÍA NEFTALÍ ROJAS VALENCIA

NOMBRE

FIRMA

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero brindado para la realización de los estudios de maestría y posteriormente para la elaboración del presente trabajo de tesis.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Dra. María Neftalí Rojas Valencia por haberme brindado el tiempo, apoyo y la confianza para el desarrollo del presente trabajo.

Al equipo de trabajo del laboratorio de Laboratorio de Biogeoquímica Ambiental del Instituto de Geografía, por brindarme su tiempo, conocimientos técnicos, instalaciones y equipos para poder realizar parte del trabajo de tesis.

- Dra. Margarita Eugenia Gutiérrez Ruiz
- Dra. Agueda Elena Ceniceros Gómez
- M. en C. Alfredo Esaú Jiménez
- Ing. Luis Fernando Piñón Flores

A la Mtra. Diana García Aguirre por el tiempo y paciencia para enseñarme y capacitarme en el uso de equipos de laboratorio, y por sus consejos para mejorar el trabajo.

A mi comité tutor:

- M. en C. Gloria Moreno Rodríguez,
- M. A. I. Landy Irene Ramírez Burgos
- Dra. Gabriela Eleonora Moller Chávez
- Dr. Daniel de los Cobos Vasconcelos

A la Lic. Josefina Elizabeth Plata García y la Lic. María Guillermina Sánchez Nahuacatl de Servicios Especializados del Instituto de Ingeniería, UNAM Biblioteca - U.S.I. por su apoyo para proporcionar documentación normativa usada para la realización del trabajo.

ÍNDICE GENERAL

1.	INTRODUCCIÓN.....	12
2.	JUSTIFICACIÓN.....	13
3.	HIPÓTESIS.....	14
4.	OBJETIVOS.....	14
4.1.	General	14
4.2.	Específicos.....	14
5.	MARCO TEÓRICO	16
5.1.	Producción de plástico.....	16
5.2.	Generación de residuos plásticos.....	26
5.3.	Bioplásticos.....	29
5.4.	Degradabilidad y biodegradabilidad de plásticos	31
5.5.	Evaluación de la biodegradabilidad y compostabilidad	37
5.6.	Bolsas compostables y biodegradables	39
5.7.	Leyes y normas relacionadas con bolsas plásticas.....	40
5.8.	Ecotoxicidad.....	42
5.9.	Características y ciclo de vida de <i>Tenebrio molitor</i> y <i>Zophobas morio</i>	43
5.9.1.	<i>Tenebrio molitor</i>	44
5.9.2.	<i>Zophobas morio</i>	45
6.	ANTECEDENTES.....	48
7.	METODOLOGÍA	51
7.1.	Revisión documental sobre bolsas compostables en México	51
7.2.	Pruebas de desintegración, biodegradación aeróbica y ecotoxicidad a 3 bolsas compostables de acuerdo con la norma NMX-E-273-NYCE-2019	51
7.2.1.	Evaluación de la desintegración de las bolsas compostables con metodología estandarizada ...	52
7.2.2.	Evaluación de la biodegradación aeróbica mediante metodología estandarizada	60
7.2.3.	Evaluación de ecotoxicidad de bolsas compostables mediante metodología estandarizada	69
7.3.	Análisis de composición química de bolsas	74
7.3.1.	Análisis de polímeros mediante espectrometría de Infrarrojo (IR-ATR)	75
7.3.2.	Análisis de metales mediante espectrometría de masas (ICP-OES).....	76
7.4.	Pruebas de consumo, biodegradación y ecotoxicidad empleando larvas de <i>Tenebrio molitor</i> y <i>Zophobas morio</i>	78
7.4.1.	Establecimiento, mantenimiento y preparación de las unidades experimentales de las larvas de <i>Tenebrio molitor</i> y <i>Zophobas morio</i> en condiciones de laboratorio	78

7.4.2.	Determinación del porcentaje de consumo de bolsas por la alimentación de larvas de <i>Tenebrio molitor</i> y <i>Zophobas morio</i>	81
7.4.3.	Evaluación de ganancia o pérdida de biomasa y ecotoxicidad de las bolsas compostables probadas en <i>Tenebrio molitor</i> y <i>Zophobas morio</i>	82
7.4.4.	Análisis de la biodegradación de bolsas compostables mediante el análisis del carbono orgánico total (COT) presente en las heces de las larvas de <i>Tenebrio molitor</i> y <i>Zophobas morio</i>	82
7.5.	Análisis de la composición química del humus generado por las larvas de <i>Tenebrio molitor</i> y <i>Zophobas morio</i>	86
7.5.1.	Análisis de polímeros mediante espectrometría de infrarrojo (IR-ATR).....	86
7.5.2.	Análisis de metales por espectrometría de masas por plasma inducido (ICP-OES)	86
7.6.	Diseño experimental	88
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	89
8.1.	Revisión documental sobre bolsas compostables en México	89
8.2.	Pruebas de desintegración, biodegradación aeróbica y ecotoxicidad realizada a 3 bolsas compostables 94	
8.2.1.	Porcentaje de desintegración (D) de acuerdo con la norma ISO 20200:2015.....	94
8.2.2.	Porcentaje de biodegradación aerobia (D _t) de acuerdo con la norma ISO 14855:2018.....	99
8.2.3.	Ecotoxicidad.....	108
8.3.	Análisis de composición química de bolsas	115
8.3.1.	Análisis de polímeros mediante espectrometría de infrarrojo (IR-ATR).....	115
8.3.2.	Análisis de metales mediante espectrometría de masas (ICP-OES).....	122
8.4.	Pruebas de consumo, biodegradación y ecotoxicidad empleando larvas de <i>Tenebrio molitor</i> y <i>Zophobas morio</i>	125
8.4.1.	Determinación del porcentaje de consumo de bolsas por la alimentación de larvas de <i>Tenebrio molitor</i> y <i>Zophobas morio</i>	125
8.4.2.	Evaluación de ganancia o pérdida de biomasa y ecotoxicidad de las bolsas compostables probadas en <i>Tenebrio molitor</i> y <i>Zophobas morio</i>	132
8.4.3.	Análisis de la biodegradación de bolsas compostables mediante el análisis del carbono orgánico total presente en las heces de las larvas de <i>T. molitor</i> y <i>Z. morio</i>	147
8.5.	Análisis de la composición de la composta/humus de <i>T. molitor</i> y <i>Z. morio</i>	151
8.5.1.	Análisis mediante espectrometría de infrarrojo (IR-ATR).....	151
8.5.2.	Análisis de metales mediante espectrometría de masas (ICP-OES).....	155
9.	CONCLUSIONES	157
10.	RECOMENDACIONES.....	159
11.	REFERENCIAS	160

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Bacterias reportadas como degradadoras de plásticos	36
Tabla 2. Hongos reportados como degradadores de plásticos	37
Tabla 3. Normatividad internacional que establece métodos para evaluar la biodegradabilidad	41
Tabla 4. Estándares internacionales para evaluar ecotoxicidad	43
Tabla 5. Composición porcentual mostrada en ficha técnica de las distintas bolsas plásticas compostables seleccionadas	52
Tabla 6. Materiales requeridos para la elaboración de 1 kg de residuo sintético	53
Tabla 7. Cantidad de biorreactores sometidos a prueba, su contenido de residuo sintético y plástico	54
Tabla 8. Actividades y tiempos para el mantenimiento de los biorreactores durante la etapa termofílica	54
Tabla 9. cantidad de macetas y semillas colocadas en la prueba de fitotoxicidad	71
Tabla 10. Tratamientos establecidos durante la prueba usando <i>T. molitor</i> y <i>Z. morio</i>	80
Tabla 11. Datos registrados en cada unidad experimental referentes a consumo, biomasa y ecotoxicidad	81
Tabla 12. Tratamientos establecidos para la prueba de COT en heces de <i>T. molitor</i> y <i>Z. morio</i>	84
Tabla 13. Bolsas compostables que pueden ser adquiridas en México de forma online	89
Tabla 14. Lista de empresas autorizadas para la comercialización de bolsas compostables en Ciudad de México.....	89
Tabla 15. Empresas que han solicitado registro para comercialización de bolsas compostables en ciudad de México.....	91
Tabla 16. Porcentaje de desintegración y porcentaje de recuperación de las bolas plásticas compostables probadas	94
Tabla 17. Resultados obtenidos de la validación porcentaje de decrecimiento de sólidos volátiles (R) en cada biorreactor.....	95
Tabla 18. Masa seca, sólidos volátiles y pH determinados en el inóculo que fue empleado en la prueba de biodegradación aerobia	99
Tabla 19. Carbono total, orgánico e inorgánico presente en las bolsas compostables utilizadas y el material de referencia	100
Tabla 20. Porcentaje de germinación mostrado por <i>H. vulgare</i> y <i>C. dactylon</i> en la prueba de viabilidad de semillas	108
Tabla 21. Resultados de las mediciones realizadas a tallos, raíces y biomasa de las plantas de <i>H. vulgare</i> cultivadas en composta con distintos plásticos compostables y arena de sílice (mezcla 50/50)	110
Tabla 22. Resultados de las mediciones realizadas a tallos, raíces y biomasa de las plantas de <i>C. dactylon</i> cultivadas en composta con distintos plásticos compostables y arena de sílice (mezcla 50/50)	112
Tabla 23. Comparación de los picos del espectro IR encontrados en las distintas bolsas	117
Tabla 24. Cantidad de metales obtenida (mg/kg) en cada muestra de las bolsas compostables evaluadas	122
Tabla 25. Cantidad promedio (mg/kg) de metales detectados en las bolsas compostables evaluadas y su comparación con los LMP establecidos por la norma NOM-004-SEMARNAT-2002, la norma UNE EN 13432:2001 y la norma ASTM D 6400	122

Tabla 26. Comparación del porcentaje promedio de consumo y recuperación de plásticos compostables de cada tratamiento con <i>Z. morio</i>	127
Tabla 27. Comparación del porcentaje promedio de consumo y recuperación de plásticos compostables de cada tratamiento con <i>T. molitor</i>	129
Tabla 28. Comparación del porcentaje promedio de consumo y recuperación de plásticos compostables de cada tratamiento usando <i>Z. morio</i> y <i>T molitor</i>	130
Tabla 29. Comparación del porcentaje de ganancia o pérdida de biomasa por larva de <i>Z. morio</i> en todos los tratamientos después de consumir 5 g de bolsa o alcanzados 56 días.....	135
Tabla 30. Comparación del porcentaje de sobrevivencia de las larvas de <i>Z. morio</i> en todos los tratamientos después de consumir 5 g de bolsa o alcanzados 56 días.....	136
Tabla 31. Comparación del porcentaje de ganancia o pérdida de biomasa por larva de <i>T. molitor</i> en todos los tratamientos después de consumir 5 g de bolsa o alcanzados 56 días.....	140
Tabla 32. Comparación del porcentaje de sobrevivencia de las larvas de <i>T. molitor</i> en todos los tratamientos después de consumir 5 g de bolsa o alcanzados 56 días.....	142
Tabla 33. Comparación del porcentaje promedio de ganancia o pérdida de biomasa alcanzado por <i>Z. morio</i> y <i>T. molitor</i> en cada tratamiento	144
Tabla 34. Comparación del porcentaje promedio de sobrevivencia en cada tratamiento usando <i>Z. morio</i> y <i>T. molitor</i>	146
Tabla 35. Porcentaje de COT contenido en heces y porcentaje de biodegradación de bolsas compostables logrado por la digestión de larvas de <i>Z. morio</i>	147
Tabla 36. Porcentaje de COT contenido en heces y porcentaje de biodegradación de bolsas compostables logrado por la digestión de larvas de <i>T. molitor</i>	148
Tabla 37. Comparación del porcentaje promedio de biodegradación de bolsas compostables en cada tratamiento evaluando el COT presente en las heces de <i>Z. morio</i> y <i>T. molitor</i>	150
Tabla 38. Comparación de los metales detectados en las bolsas compostables evaluadas y después de la digestión de las mismas realizada por <i>Z. morio</i> y <i>T. molitor</i>	155

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gráfica de producción mundial de plásticos de 1950 a 2015	17
Figura 2. Gráfica de acumulación plástico que se han producido desde 1950 a 2015	18
Figura 3. Porcentaje promedio de producción mundial de los distintos plásticos	19
Figura 4. Producción de plástico por tipo de plástico durante el año 2015.....	20
Figura 5. Demanda de plásticos por distintas industrias en el mundo durante 2015.	21
Figura 6. Ecuaciones generales de biodegradación de materia orgánica de forma aerobia y anaerobia.	32
Figura 7. Representación esquemáticamente general de la degradación de polímeros durante un período de tiempo.	33
Figura 8. Rutas de biodegradación de un plástico desde la despolimerización.	35
Figura 9. Ciclo de vida de Tenebrio molitor. A) huevos previos a eclosionar, b) periodo de desarrollo larval, c) etapa de pupa o crisálida, d) adultos listos para la reproducción y deposición huevos	45
Figura 10. Ciclo de vida de Zophobas morio a) huevos previos a eclosionar, b) periodo de desarrollo larval, c) etapa de pupa o crisálida, d) adultos listos para la reproducción y deposición huevos	47
Figura 11. Contenedor de polipropileno utilizado para la prueba de desintegración	53
Figura 12. Ejemplo de la evolución de los biorreactores con plástico compostable EH. De arriba hacia abajo e izquierda a derecha días 0, 7,14, 21, 28, 30, 33, 36, 39, 42, 51 y 54	55
Figura 13. Cernido de las compostas generadas para la recuperación de plásticos	56
Figura 14. Diagrama que describe la metodología utilizada para determinar la desintegración plástica según ISO 20200:2015	59
Figura 15. Diagrama del sistema de trampas, biorreactor, humidificador y deshumidificador utilizado	63
Figura 16. Imagen completa del sistema real montado para llevar a cabo la prueba de biodegradación por el método de análisis de dióxido de carbono desprendido	63
Figura 17. Imagen del sistema real una vez montado, a la izquierda se observa la conexión de aire con la trampa de CO ₂ de ingreso, un flujómetro y llaves de paso para regular el flujo de aire, en el centro se puede observar la incubadora, y a la derecha se observan las trampas de amonio los deshumidificadores y la trampa de CO ₂ final	64
Figura 18. Fotografías de los biorreactores durante su preparación, a la izquierda se observa el material plástico usado y la celulosa, en medio los biorreactores con inoculo y arena de sílice, y a la derecha el pesaje de un biorreactor con todos los materiales.....	64
Figura 19. Fotografía izquierda, interior de la incubadora con los biorreactores conectados a la fuente de aire y a la derecha termómetro mostrando una temperatura de 59°C dentro de la incubadora.....	65
Figura 20. Fotografía de una trampa de CO ₂ lista para realizar el pesaje	65
Figura 21. Diagrama que describe el método empleado para determinar biodegradación aerobia	68
Figura 22. Cajas de Petri con semillas de Hordeum vulgare en la prueba de viabilidad de semillas	70
Figura 23. Diagrama que describe la metodología para evaluar la viabilidad de las semillas.....	70

Figura 24. Fotografías de inicio de la prueba de fitotoxicidad a la derecha vaso usado como maceta, al centro pesaje de semillas de pasto, y a la izquierda incubadora/invernadero para cultivo en interior	72
Figura 25. Fotografías del desarrollo de las plantas en cultivo interior, a la izquierda y centro <i>Hordeum vulgare</i> a 7 y 21 días de germinación respectivamente, a la izquierda <i>Cynodon dactylon</i> a 7 días de germinación.....	72
Figura 26. Fotografías del proceso de extracción procesamiento de las plantas, arriba de izquierda a derecha: 1 y 2) limpieza y secado de raíces, 3 y 4) medición de altura máxima, abajo de izquierda a derecha: 1) Colocación de pasto en charolas para secado en horno, 2) pasto seco después de 24 h en el horno y 3) pesaje de biomasa seca	73
Figura 27. Diagrama que describe metodología usada para la evaluación de ecotoxicidad en plantas	74
Figura 28. Diagrama que describe la metodología que utilizada para el análisis de la composición química de las bolsas por espectrometría infrarrojo	75
Figura 29. Fotografías del proceso de digestión de los plásticos seleccionados, de izquierda a derecha, horno de microondas, dispositivos para alta presión, tubos de teflón antes de verter el contenido, y matraz aforado de 50 mL con la digestión después de la filtración.....	77
Figura 30. Diagrama que describe la metodología utilizada para la determinación de metales en las bolsas por espectrometría ICP-OES.....	78
Figura 31. Ejemplo de la pecera en la que fueron mantenidas las larvas de <i>T. molitor</i> y <i>Z. morio</i> antes de iniciar la prueba.....	79
Figura 32. Contenedores de polipropileno con larvas y plástico compostable	80
Figura 33. Contenedores larvas de <i>T. molitor</i> y <i>Z. morio</i> durante un conteo de sobrevivencia.....	82
Figura 34. Contenedores de polipropileno con los distintos plásticos compostables y las larvas de <i>T. molitor</i> (arriba) y <i>Z. morio</i> (abajo) durante la obtención de las heces para la prueba de COT.....	83
Figura 35. Capsulas de alúmina-porcelana con 50 mg de heces de larvas de <i>Z. morio</i>	85
Figura 36. Fotografías del proceso de digestión de las heces de las larvas de <i>T. molitor</i> y <i>Z. morio</i> . De izquierda a derecha: 1) pesaje de una muestra, 2) muestras listas para la digestión, 3) adición de ácido nítrico 70% a un tubo de teflón con muestra, 4) Horno de microondas con muestras y 5) matraz aforado de 50 mL con el filtrado de la digestión.....	88
Figura 37. Plásticos compostables recuperados después de concluida la prueba de desintegración. De izquierda a derecha: polipropileno, bolsa WC, arriba bolsa EA, abajo bolsa EH	95
Figura 38. Gráfica de porcentaje de biodegradación aerobia última con respecto al tiempo (días), los datos mostrados corresponden a las repeticiones número 1 de todos los tratamientos	101
Figura 39. Gráfica de porcentaje de biodegradación aerobia última con respecto al tiempo (días), los datos mostrados corresponden a las repeticiones número 2 de todos los tratamientos	102
Figura 40. Gráfica de porcentaje de biodegradación aerobia última con respecto al tiempo (días), los datos mostrados corresponden a las repeticiones número 3 de todos los tratamientos	102
Figura 41. Germinación de semillas de <i>H. vulgare</i> y <i>C. dactylon</i> en la prueba de viabilidad	109
Figura 42. Espectro Infrarrojo (absorbancia) de la bolsa EA, pueden observarse los picos representativos del espectro	115
Figura 43. Espectro Infrarrojo (absorbancia) de la bolsa EH, pueden observarse los picos representativos del espectro	116

Figura 44. Espectro Infrarrojo (absorbancia) de la bolsa WC, pueden observarse los picos representativos del espectro	116
Figura 45. Espectro Infrarrojo (absorbancia) de PLA puro, pueden observarse los picos representativos del espectro	120
Figura 46. Promedio total en gramos de bolsas compostables y salvado de trigo consumido por las larvas de Z. morio al final de la prueba	125
Figura 47. Promedio total en gramos de bolsas compostables y salvado de trigo consumido por las larvas de Z. morio con respecto al tiempo	126
Figura 48. Promedio total en porcentaje de consumo de bolsas compostables y salvado de trigo consumido por las larvas de Z. morio con respecto al tiempo	126
Figura 49. Promedio total en gramos de bolsas compostables y salvado de trigo consumido por las larvas de T. molitor al final de la prueba	128
Figura 50. Promedio total en gramos de bolsas compostables y salvado de trigo consumido por las larvas de T. molitor con respecto al tiempo.....	128
Figura 51. Promedio total en porcentaje de consumo de bolsas compostables y salvado de trigo consumido por las larvas de T. molitor con respecto al tiempo	129
Figura 52. Peso promedio de todos los tratamientos de Z. morio con respecto al tiempo	132
Figura 53. Peso promedio de todos los tratamientos de Z. morio por larva con respecto al tiempo y sobrevivencia.....	133
Figura 54. Comparativa de peso promedio inicial total contra peso promedio final total de las larvas de Z. morio por cada tratamiento.....	134
Figura 55. Promedio de sobrevivencia de larvas de Z. morio en cada tratamiento respecto al tiempo	136
Figura 56. Peso promedio de las larvas T. molitor en todos los tratamientos respecto al tiempo.....	138
Figura 57. Peso promedio de todos los tratamientos de T. molitor por larva respecto al tiempo y sobrevivencia	138
Figura 58. Comparativa del peso promedio inicial total contra peso promedio final total de las larvas de T. molitor por cada tratamiento.....	140
Figura 59. Promedio de sobrevivencia de larvas de T. molitor en cada tratamiento respecto al tiempo	142
Figura 60. Imagen Izquierda heces de las larvas de Z. morio obtenidas después del consumo de los distintos plásticos. De izquierda a derecha arriba EA y CT, abajo WC y EH. Imagen derecha heces de las larvas de T. molitor obtenidas después del consumo de los distintos plásticos. De izquierda a derecha arriba EA y CT, abajo WC y EH	151
Figura 61. Comparación de los espectros IR de la bolsa EA, y después de la actividad digestiva (heces) de Z. morio (ZmEA) y T. molitor (TmEA)	152
Figura 62. Comparación de los espectros IR de la bolsa EH, y después de la actividad digestiva (heces) de Z. morio (ZmEH) y T. molitor (TmEH).....	152
Figura 63. Comparación de los espectros IR de la bolsa WC, y después de la actividad digestiva (heces) de Z. morio (ZmWC) y T. molitor (TmWC).....	153
Figura 64. Comparación de los espectros IR del salvado de trigo (CT), y después de la actividad digestiva (heces) de Z. morio y T. molitor.....	153

1. INTRODUCCIÓN

La producción anual mundial de plásticos ha incrementado significativamente desde los años 50 hasta la fecha, la causa del incremento de la producción de plásticos se debe a su uso masivo en distintas actividades humanas y al desarrollo de la tecnología (Plastics Europe, 2018). Cada año la mala disposición de los residuos plásticos ha llevado a su acumulación en el ambiente, causando contaminación y riesgos a la salud (Eriksen *et al.*, 2014).

Aunque el uso de productos plásticos principalmente los denominados “de un solo uso” como las bolsas plásticas conlleva un gran coste ambiental, millones de estos productos plásticos se consumen en todo el mundo a diario, por esto, diferentes países han tomado medidas para disminuir o eliminar su consumo. Entre las soluciones que se han propuesto para abordar la problemática se encuentra la sustitución de plásticos convencionales por los llamados bioplásticos, que son materiales desarrollados a través de fuentes en su mayoría renovables, diseñados para ser compostables y/o biodegradables (Castellon *et al.*, 2016). La biodegradabilidad de estos materiales se debe a que al interactuar con el ambiente son desactivados a nivel estructural físico y químico. El grado de biodegradación de los materiales plásticos está altamente influido por las condiciones del ambiente y por las comunidades microbianas que ahí se encuentren (Emadian *et al.*, 2017).

La evaluación de la biodegradabilidad de los bioplásticos ha sido un difícil reto. Con el fin de estandarizar las técnicas y criterios de evaluación, una serie de normas fueron establecidas (Krzan *et al.*, 2006). Entre las normas más conocidas pueden mencionarse la europea EN 13432, la australiana AS 4736, la internacional ISO 17088 y la estadounidense ASTM D6400, dichas normas consideran dentro de la evaluación criterios tales como: Desintegración, Degradación química, Ecotoxicidad y Características químicas. No obstante, se puede decir que no existe una prueba propuesta que confirme cien por ciento la biodegradabilidad, y las que existen no se pueden considerar como pruebas rápidas de biodegradabilidad (Vázquez *et al.*, 2018).

Por lo anterior, es necesario el desarrollo de nuevos métodos que consideren los criterios ya establecidos por la normatividad, pero que agreguen más evidencia y reduzcan tiempo para mejorar la toma de decisión sobre si un bioplástico es compostable y/o biodegradable.

2. JUSTIFICACIÓN

De los criterios establecidos para la evaluación de la biodegradabilidad de una bolsa plástica, llama la atención particularmente el de “ecotoxicidad” el cual generalmente es evaluado con plantas o lombrices de tierra, y aunque estos organismos pueden ser útiles, tienen la limitación de que su interacción con el plástico es únicamente de contacto lo que podría disminuir hasta cierto punto la información que se obtiene y con la que se toma la decisión sobre el efecto ecotóxico, por lo que es necesario buscar alternativas que mejoren este criterio.

Resumiendo, la alta demanda de productos plásticos y la necesidad urgente de sustituir estos por bioplásticos hace necesario el desarrollo de nuevos métodos/herramientas/técnicas que consideren los criterios ya establecidos por la normatividad existente, pero que agreguen más evidencia y reduzcan tiempo para mejorar la toma de decisión sobre si un bioplástico pueda ser considerado biodegradable o compostable. De esta forma, un recurso viable de introducción en dichos métodos pueden ser los insectos conocidos por consumir y digerir plásticos *Zophobas morio* y *Tenebrio molitor* pertenecientes a la familia Tenebrionidae. Diversos estudios como los de Yang *et al.*, en 2014, 2015^a y 2015^b, Brandon *et al.*, en 2018, y Peng *et al.*, en 2019 han mostrado la gran capacidad de estos organismos para degradar plásticos, esto gracias a las bacterias que se encuentran en su tracto digestivo. Otro estudio realizado en Taiwan en el 2017 donde se aislaron dos bacterias del *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio* mostraron que estas pueden utilizar plásticos como fuente de carbono (Tang *et al.*, 2017).

Por consiguiente, debido a las pocas metodologías, normativas y a la escasa unificación de criterios en materia de biodegradación y compostabilidad de bioplásticos, este trabajo de investigación pretende evaluar una técnica rápida no convencional para identificar plásticos biodegradables, compostables o tóxicos usando *Zophobas morio* y *Tenebrio molitor*, contribuyendo con una técnica rápida que permita validar el cumplimiento de los dictámenes de biodegradabilidad y compostabilidad nacionales e internacionales, para las bolsas destinadas a ser compostables fabricadas con bioplásticos, beneficiando al sector público y privado.

3. HIPÓTESIS

Las larvas de *Zophobas morio* y *Tenebrio molitor* pueden usarse como herramienta para desarrollar una técnica/método que permitiría identificar fácilmente plásticos biodegradables, compostables y tóxicos en un tiempo menor, comparado con los métodos existentes usados para el mismo propósito.

4. OBJETIVOS

4.1. General

Evaluar una técnica rápida para identificar y determinar plásticos biodegradables, compostables o tóxicos con *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio*, en comparación con los métodos usados para el mismo propósito.

4.2. Específicos

- a) Realizar una revisión documental y clasificación sobre las bolsas certificadas como compostables disponibles en México y las principales materias primas utilizadas en su fabricación.
- b) Desarrollar pruebas de desintegración, biodegradación aeróbica y ecotoxicidad a 3 bolsas compostables, basadas en la normativa NMX-E-273-NYCE-2019.
- c) Analizar la composición química de 3 bolsas certificadas como compostables mediante espectroscopia de infrarrojo y espectrometría de masas por plasma inducido (ICP-OES).
- d) Desarrollar pruebas de consumo, biodegradación y ecotoxicidad a 3 bolsas certificadas como compostables mediante el empleo de larvas de *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio* mantenidas bajo condiciones de laboratorio.
- e) Analizar la composición de la composta/humus generado por la digestión de *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio* alimentadas con 3 bolsas certificadas como compostables mantenidas bajo

condiciones controladas de laboratorio mediante espectroscopia de infrarrojo y espectrometría de masas por plasma inducido (ICP-OES).

- f) Desarrollar un diseño de experimentos para dar una interpretación estadística de los resultados obtenidos.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. Producción de plástico

El plástico es una materia prima muy versátil y de bajo costo que desde que su aparición hace varios años y pasando desde los primeros plásticos como el celuloide, la parkesina y la baquelita hasta el cloruro de polivinilo, el poliestireno y el polietileno y sus variantes, ha sido utilizado en diversas actividades humanas, de forma que prácticamente una alta cantidad de objetos que nos rodean están constituidos parcial o íntegramente por plásticos de diferente naturaleza, ya que por sus características ha sido aprovechado en diferentes industrias y actividades productivas (Luengo, 2018).

El efecto de los productos plásticos en la economía es fundamental ya que un consumidor promedio usa diversos productos plásticos de manera cotidiana, ya sea para consumo personal (ropa, muebles, artículos de oficina, utensilios de cocina, entre otros) o a través de otras actividades productivas, como la construcción, las comunicaciones, el transporte, el almacenamiento. Por tal razón, la industria del plástico está considerada como una de las actividades productivas de mayor dinamismo a nivel nacional e internacional. Su importancia es tal que los productos que genera son materia prima o bienes intermedios o finales, los cuales abastecen a muchas otras industrias o brindan satisfacción al consumidor final como ya fue mencionado (Góngora 2014).

El término “plástico”, proveniente del griego y significa “que puede ser moldeado por el calor”. Los plásticos también son comúnmente llamados “polímeros” en virtud de que son productos orgánicos, a base de carbono, con moléculas de cadenas largas. En este sentido, existen tres categorías generales:

1. Plásticos naturales: aquellos productos de la naturaleza que pueden ser moldeados mediante calor, por ejemplo, algunas resinas de árboles.
2. Plásticos semisintéticos: aquéllos que derivan de productos naturales y que han sido modificados o alterados mediante la mezcla con otros materiales.
3. Plásticos sintéticos: aquéllos derivados de alterar la estructura molecular de materiales a base de carbono (petróleo crudo, por lo general, carbón o gas).

El primer uso de los plásticos se remonta a las fuerzas armadas en la segunda guerra mundial, no obstante, después de este suceso empezó la producción masiva de forma generalizada. En la

actualidad el mercado más grande de plásticos es el de los empaques, una aplicación cuyo crecimiento fue acelerado por un cambio global de empaques reutilizables a empaques de un solo uso (Geyer *et al.* 2017).

De acuerdo con lo mencionado anteriormente, la producción de plástico ha mantenido un crecimiento constante desde 1950 registrando una producción de 1.7 millones de toneladas durante ese año. Posteriormente tuvo un incremento de 13.6% promedio anual durante 26 años, y finalmente a partir de 1976, el crecimiento ha sido más moderado, pero aún muestra tasas interanuales relativamente altas. Para el año 2017 la producción de plástico fue de 348 Millones de toneladas, donde en la región de América del norte contribuyó con 17.7% de la producción, obteniendo el tercer lugar en producción de plástico a nivel mundial y para 2018, la producción de plásticos en el mundo alcanzó casi los 360 millones de toneladas (Góngora, 2014, Ritchie y Roser, 2018, Plastics Europe, 2018 y 2019). En la figura 1 se muestra el incremento en la producción de plásticos a lo largo del tiempo y en la figura 2 se muestra un gráfico de acumulación desde que se inició su producción masiva.

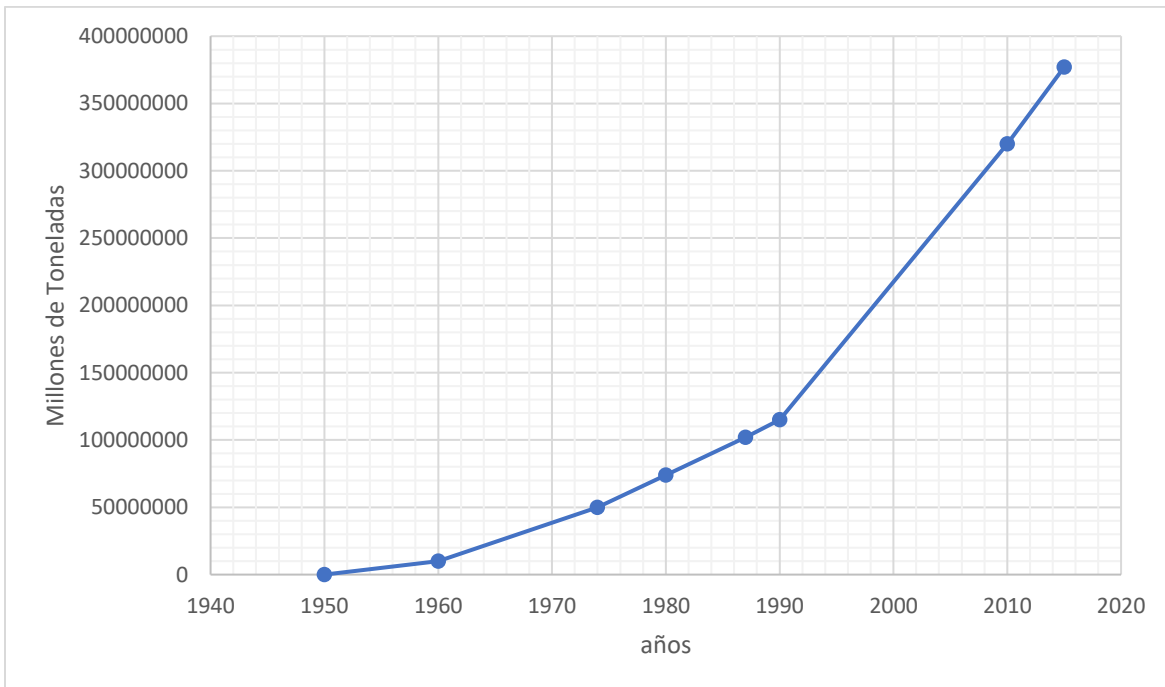


Figura 1. Gráfica de producción mundial de plásticos de 1950 a 2015

Fuente: Grey, et al 2017.

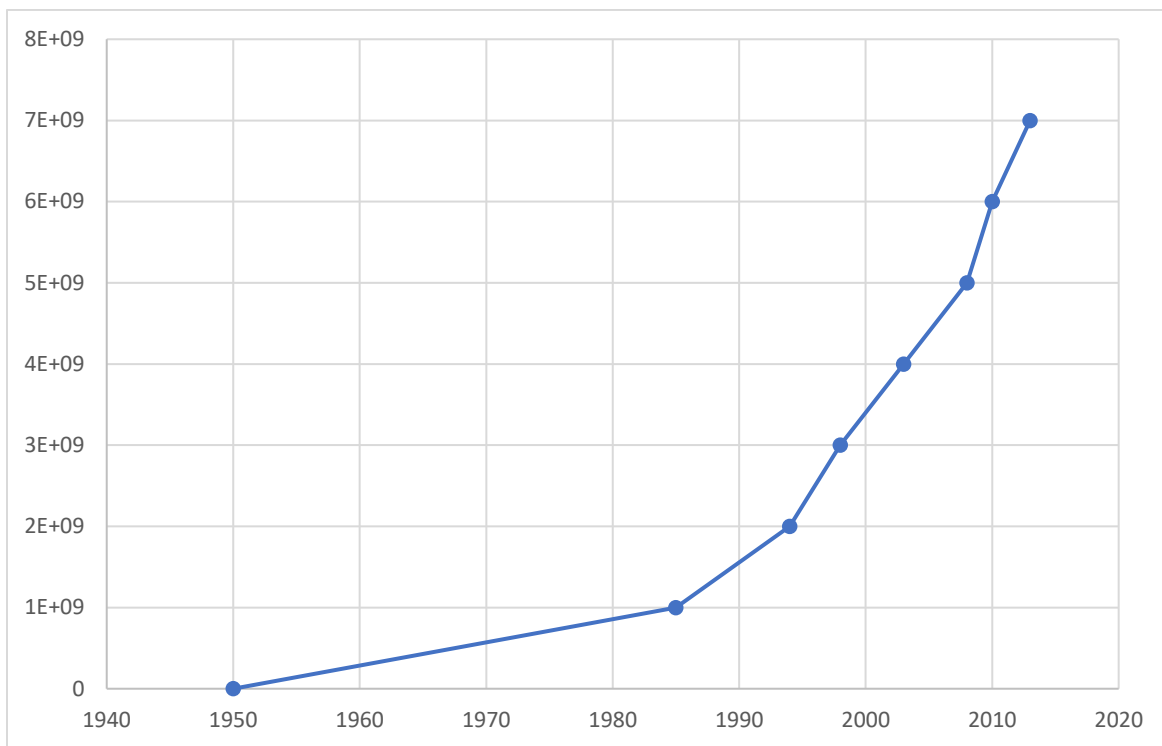


Figura 2. Gráfica de acumulación plástico que se han producido desde 1950 a 2015

Fuente: Grey, et al 2017.

En cuanto a la producción por región la información con la que se cuenta muestra una alta competitividad internacional, donde China se mantiene como el máximo productor con 24% del total. Japón y el resto de Asia contribuyen en conjunto con 21%, por tanto, el continente asiático podría considerarse como la región más importante del mundo en producción de plásticos. Por otro lado, Europa y América del Norte, con 20% del total de la producción cada una, representan 40% del total (Ritchie y Roser, 2018).

En cuanto a la producción por tipo de plástico se pueden distinguir seis tipos:

1. Polietileno, incluidos el polietileno de baja densidad (PEBD), el polietileno lineal de baja densidad (PELBD) y el polietileno de alta densidad (PEAD).
2. Polipropileno (PP).
3. Policloruro de vinilo (PVC).
4. Poliestireno sólido (PS) y expandido (PS-E).
5. Polietileno tereftalato (PET).

6. Poliuretano (PUR).

Estos seis polímeros representan alrededor de 80% de la producción total de plástico en el mundo; el polietileno, el polipropileno y el policloruro de vinilo son los tres tipos de plástico más producidos (Gonzales, 2019). Los plásticos biodegradables tienen actualmente una capacidad de producción global de solo 4 Millones de toneladas por lo que no son representativos comparados con los plásticos antes mencionados (European Bioplastics, 2017). En la figura 3 y 4 se muestra la producción de plástico mundial por tipo de plástico de manera general y según la producción mundial en 2015 respectivamente.

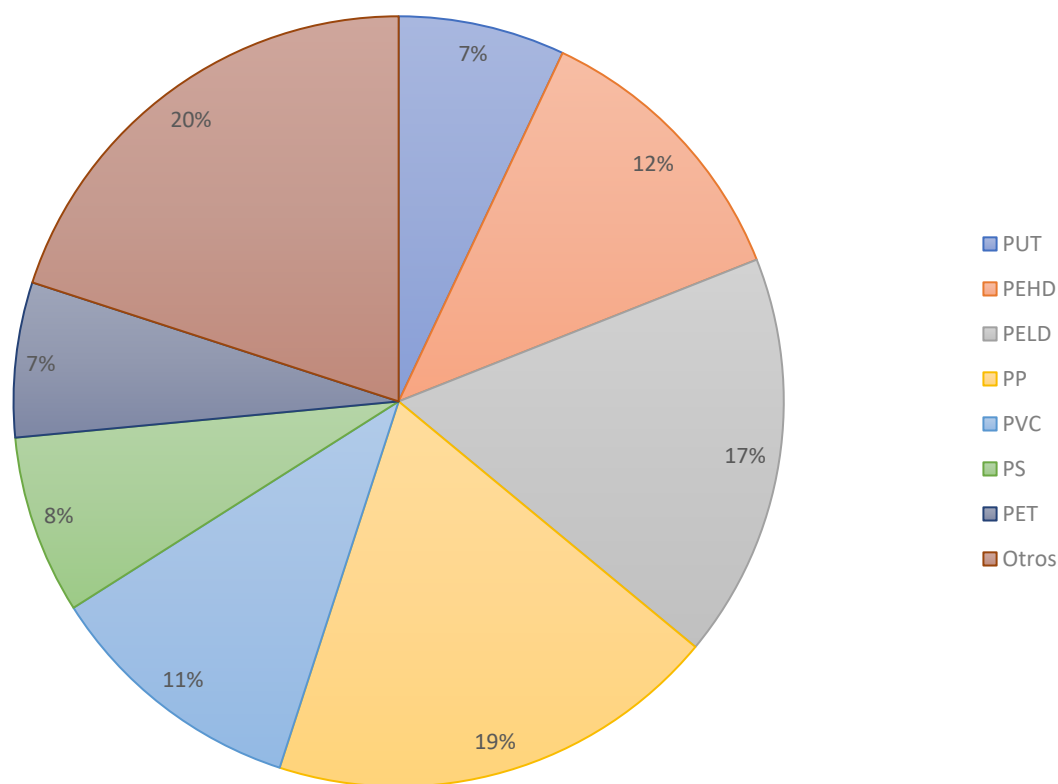


Figura 3. Porcentaje promedio de producción mundial de los distintos plásticos (PUT: poliuretano, PEHD: polietileno de alta densidad, PELD: polietileno de baja densidad, PP: polipropileno, PVC: policloruro de vinilo, PS: poliestireno, PET: Tereftalato de polietileno)

Fuente: Góngora, 2014.

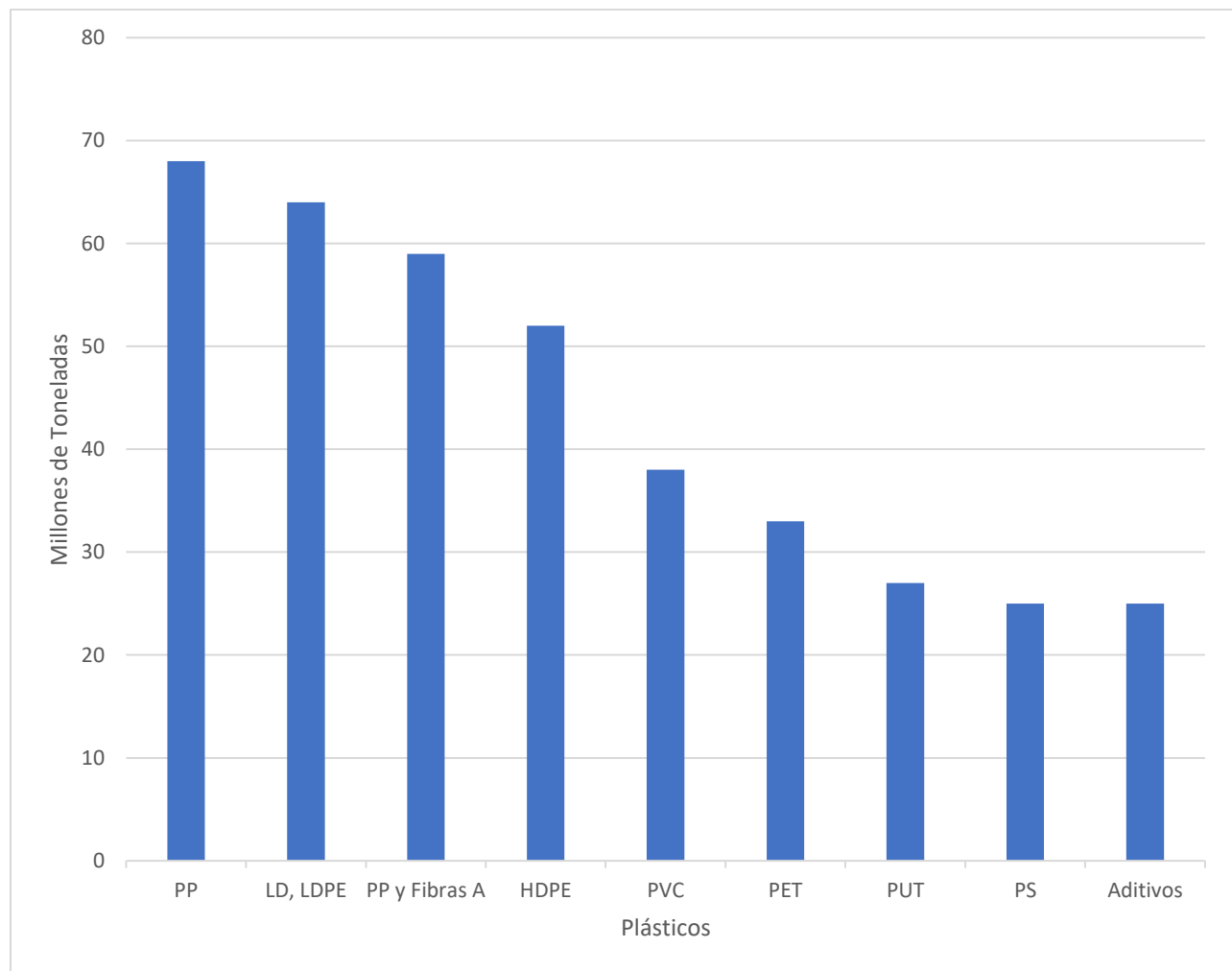


Figura 4. Producción de plástico por tipo de plástico durante el año 2015 (PUT: poliuretano, PEHD: polietileno de alta densidad, PELD: polietileno de baja densidad, PP: polipropileno, PVC: policloruro de vinilo, PS: poliestireno, PET: Tereftalato de polietileno)

Fuente: Grey, et al 2017.

De acuerdo con Ritchie y Roser, 2018, en el año 2015 la industria de producción contenedores, embalajes y/o empaques, fue la que demandó más plásticos a nivel mundial, con el 42 por ciento de la producción total de plásticos primarios. La edificación y la construcción fue el segundo sector más grande pues utilizó el 19 por ciento del total. En la figura 5 se muestra la cantidad de plástico demandado por diferentes industrias en el año 2015.

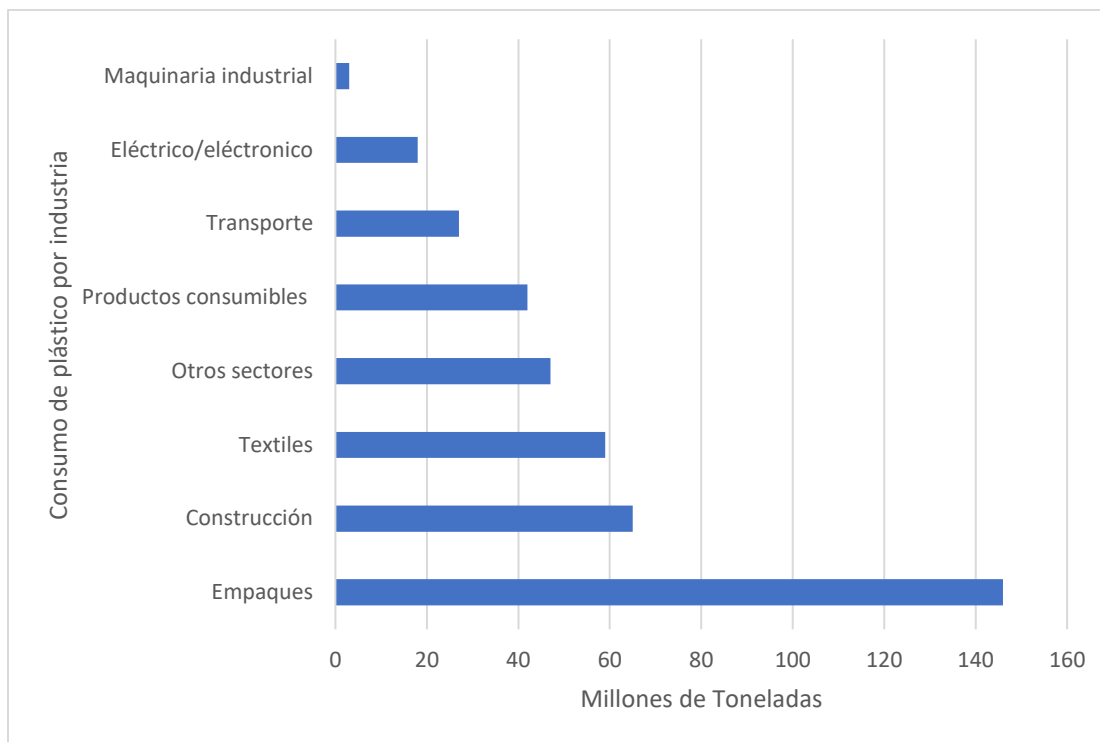


Figura 5. Demanda de plásticos por distintas industrias en el mundo durante 2015.

Fuente: Grey, et al 2017.

En el caso de México, la industria del plástico ha mantenido un ritmo de crecimiento discreto en los últimos 10 años. El crecimiento de la industria del plástico se calcula aproximadamente en 3.03% promedio anual. Este ritmo ha permitido a la industria del plástico aumentar su valor 20.4% entre 2003 y 2013, al pasar de 44 925 millones de pesos a 54 117 millones de pesos. La industria química del plástico representó el 2,1% del PIB en el año 2016 que son 15.964 millones de dólares (Flores, 2013 y Góngora, 2014).

En México la producción de la rama automotriz es muy importante y funciona como sector de arrastre de otro tipo de actividades económicas que la alimentan como la industria del plástico, pues esta desempeña un papel relevante como proveedor de piezas necesarias para la producción y los acabados de dicha rama. Este tipo de uso alcanza 8,2% del total de las resinas producidas (Cuautle y Buitron, 2019).

Otro aspecto destacable es el comportamiento de la industria mexicana del plástico en el mercado internacional durante la década más reciente. Al igual que la gran mayoría de las actividades relacionadas con las manufacturas, la industria nacional del plástico ha logrado dinamizar de manera notable su participación en el comercio exterior. Las exportaciones de plásticos mexicanos aumentaron 9.67% promedio anual en el periodo 2003-2013, mientras que las importaciones crecieron 6.04% promedio anual en el mismo lapso, lo cual permitió aminorar el aumento del déficit comercial que presenta la industria (Flores, 2013 y Góngora, 2014).

Como se ha visto, existen distintos plásticos por lo que se hace conveniente una ligera descripción de los mismos, así como de sus usos principales incluyendo a los bioplásticos más comunes. Los plásticos se pueden dividir en dos clases principales: resinas termoplásticas y resinas termoestables convencionales, es importante mencionar que estos plásticos provienen principalmente de la industria petroquímica (Flores, 2013 y Neri del Castillo 2013). Actualmente se incluyen como polímeros emergentes a los bioplásticos.

Resinas termoplásticas comunes

Estos polímeros se caracterizan porque durante su fabricación y transformación sus propiedades permanecen prácticamente sin cambiar, así mismo, son plásticos que expuesto a altas temperaturas puede fundirse, haciendo posible que sea moldeado, generando diversas formas. Este tipo de plásticos se derrite cuando se calienta y se endurece cuando se enfría y por ello son susceptibles de ser reutilizadas como materias primas en las operaciones de transformación. De igual forma, los termoplásticos también pueden constituirse elementos químicos como azufre, silicio, fósforo, nitrógeno, cloro y flúor en menor o mayor grado. Todo depende del tipo de termoplástico que se trate en particular. Algunos ejemplos son: polietileno, policloruro de vinilo, poliestireno, polietilentereftalato y polipropileno como los principales (Nicolin y Rosas, 2005 y López, 2014).

Polietileno (PE). En este polímero podemos encontrar 2 tipos principales el polietileno de baja densidad (LDPE) que es relativamente flexible y el polietileno de alta densidad (HDPE), que es más rígido que el LDPE.

Su estructura es parcialmente cristalina. Presenta una densidad: 0.92-0.96 g/cm³. Algunas de sus propiedades físicas y químicas son: material flexible y blando, resiste una temperatura de -40· C, es

resistente al choque, inquebrantable. Excelentes propiedades dieléctricas, inocuo para la salud, permeable a sustancias aromáticas, resistente a ácidos, disolventes, alcohol, gasolina, zumos de frutas, aceite, leche, etc. Sin embargo, no es resistente a hidrocarburos clorurados. Es fácil de inflamar, gotea durante la combustión, llama clara con núcleo azul, fuerte olor a parafina.

Sus principales usos son: láminas, sacos y bolsas, envases complejos, botellas flexibles y rígidas, juguetes, aislamiento de cable, cajas, etc. Para el proceso de reciclado se admite hasta el 100% de material recuperado.

Polipropileno (PP). Su estructura es parcialmente cristalina. Presenta una densidad: 0.91-0.93 g/cm³. Algunas de sus propiedades físicas y químicas son: es más duro y resistente a temperaturas altas que el PE, pero menos resistente a temperaturas bajas. Es duro, difícil de romper, excelentes propiedades dieléctricas, inocuo para la salud, permeables a sustancias aromáticas. Es resistente a ácidos, soluciones salinas, alcohol, gasolina, zumos de frutas, aceite, leche, etc. No es resistente a hidrocarburos clorurados y al cobre. El PP es fácil de inflamar, gotea durante la combustión, llama clara con núcleo azul, fuerte olor a parafina.

Sus principales usos son: apto para bisagras, piezas para la industria automotriz, bolsas para alimentación y vestido, mobiliario, tuberías, sacos de rafia, etc. En el proceso de reciclado se admite hasta el 100% de material recuperado.

Policloruro de vinilo: PVC. Presenta una estructura amorfa, con una densidad de 1.35 g/cm³ para el PVC duro y 1.1 a 1.4 g/cm³. PVC blando. Sus propiedades físicas y químicas son: es duro, rígido, flexible elástico transparente hasta opaco, resistente a ácidos, detergentes, grasas. Sin embargo, no es resistente a gasolina, acetona o ésteres. Es difícil de inflamar, arde con llama verde y un olor a HCl.

Sus principales usos son: PVC rígido materia prima para botellas transparentes, film transparente para el embalaje, discos, guarniciones de automóvil, tuberías, etc. PVC flexible: aislamiento de cables, pavimentos, suelas de zapato, tuberías, impermeables, cuero artificial, etc. En el proceso de reciclado si el material no está dañado térmicamente puede volver a utilizarse en su totalidad.

Poliestireno (PS). Presenta una estructura amorfa. Con una densidad: 1.05 g/cm³. Algunas de sus propiedades físicas y químicas son: es duro, rígido, fácil de quebrar, excelentes propiedades

dieléctricas, alta estabilidad, transparente, brillante, fácil de colorear sin olor ni sabor. Resistente a ácidos, alcohol, grasa, aceites y soluciones salinas. No es resistente a gasolina, benceno, diversos disolventes. Es fácil de inflamar, arde con llama amarilla y un olor típicamente dulzón (estireno).

Sus principales usos son: materia prima de pequeños recipientes para productos alimenticios (yogurt, huevo), tazas, bandejas, material transparente de iluminación, etc. En el proceso de reciclado se admite hasta el 100% de material recuperado.

Polietilentereftalato (PET). Su estructura es parcialmente cristalina. Presenta una densidad: 1.35 g/cm³ Algunas de sus propiedades físicas y químicas son: duro, rígido, tenaz, consistente, buena estabilidad, poco higroscópico, resistente a aceites, grasas, alcoholes, éter, gasolina, ácidos débiles y alcalinos débiles. No es resistente a benceno, acetona, ácidos y alcalinos fuertes. Es difícil de inflamar, se apaga después de eliminar la llama, forma llama luminosa de color naranja produciendo un olor aromático.

Sus principales usos son: Usos: materia prima para embalajes y recipientes de almacenamiento, principalmente refrescos, líquidos, etc. En el proceso de reciclado se puede añadir hasta un 20% de recuperado al material virgen, si no está dañado térmicamente.

Resinas termoestables comunes

Estos polímeros se caracterizan por el hecho de que, durante su fabricación, se producen en ellas un cambio químico, o una reacción de entrecruzamiento, para dar lugar a productos que no son capaces de ser fundidos de nuevo y en los que su estructura química ha sido modificada de forma sustancial. En general lo que ocurre es que las cadenas de estos plásticos generan una red tridimensional espacial, de manera que se enlazan con fuertes enlaces equivalentes. De este modo se crea una estructura de un conglomerado de cadenas entrelazadas, las cuales parecen y funcionan como una macromolécula. Cuando se eleva la temperatura de ésta, las cadenas se compactan más, de este modo el polímero se vuelve más resistente hasta el punto en que se degrada. Por esta razón, los plásticos termoestables no pueden ser considerados normalmente como susceptibles de reciclado. Algunos ejemplos son: resinas de fenol/formaldehído, urea/formaldehído, poliésteres, etc. Cabe destacar que el poliuretano es la única resina termoestable que se puede reciclar, sin afectar sus propiedades (Nicolin y Rosas, 2005 y López, 2014).

Poliuretano (PU). se obtiene de bases hidroxílicas combinadas con diisocianatos. Los poliuretanos se clasifican en dos grupos, definidos por su estructura química, diferenciados por su comportamiento frente a la temperatura. De esta manera pueden ser de dos tipos: Poliuretanos termoestables o poliuretanos termoplásticos. Los poliuretanos termoestables más habituales son espumas, muy utilizadas como aislantes térmicos y como espumas resilientes.

La mayoría de los poliuretanos son termoestables, aunque existen algunos poliuretanos termoplásticos para algunas aplicaciones especiales. Posee un coeficiente de transmisión de calor muy bajo, mejor que el de los aislantes tradicionales, lo cual permite usar espesores mucho menores en aislaciones equivalentes. Mediante equipos apropiados se realiza su aplicación "in situ" lo cual permite una rápida ejecución de la obra consiguiéndose una capa de aislación continua, sin juntas ni puentes térmicos. Su duración, debidamente protegida, es indefinida. Tiene una excelente adherencia a los materiales normalmente usados en la construcción sin necesidad de adherentes de ninguna especie. Tiene una alta resistencia a la absorción de agua. Muy buena estabilidad dimensional entre rangos de temperatura desde -200 °C a 100 °C. Refuerza y protege a la superficie aislada. Dificulta el crecimiento de hongos y bacterias. Tiene muy buena resistencia al ataque de ácidos, álcalis, agua dulce y salada, hidrocarburos, etc.

Sus principales usos son: la fabricación de pinturas sintéticas, especialmente útiles para automóviles por fuerte adherencia al metal y gran resistencia a las inclemencias climatológicas. Incluso se utiliza en el sector de la construcción para la fabricación de espumas, en la producción de paneles aislantes para cámaras frigoríficas, fachadas y cubiertas. A diferencia de otras espumas, la de poliuretano logra un acabado sin poros, motivo de su extensa utilización en el campo del aislamiento industrial. No es posible reciclarlo.

El plástico es una materia prima muy versátil y de bajo costo que desde que su aparición hace varios años y pasando desde los primeros plásticos como el celuloide, la parkesina y la baquelita hasta el cloruro de polivinilo, el poliestireno y el polietileno y sus variantes, ha sido utilizado en diversas actividades humanas, de forma que prácticamente una alta cantidad de objetos que nos rodean están constituidos parcial o íntegramente por plásticos de diferente naturaleza, ya que por sus características ha sido aprovechado en diferentes industrias y actividades productivas (Luengo, 2018).

5.2. Generación de residuos plásticos

Considerando lo mencionado anteriormente, se espera que la demanda de los plásticos siga aumentando significativamente en todo el planeta, con lo que aumenta la extracción de materias primas para su fabricación y los residuos generados por las distintas industrias que los utilizan. Desde finales del siglo XX y comienzo del siglo XXI, la generación de residuos plásticos se ha convertido en un problema de difícil manejo en general para todas las naciones, dicho problema se ve impulsado por el crecimiento de la población mundial, los sistemas económicos imperantes y la falta de cultura ambiental (León, 2018).

Como ya fue indicado, el mercado más grande de plásticos es el de los empaques, envolturas, y/o artículos desechables; lo que influye directamente en la composición de la fracción inorgánica de los residuos sólidos urbanos (FIRSU), dicha fracción de plásticos aumentó de menos del 1% en 1960 a más del 10% en 2005 en países desarrollados, y se observa tendencias similares en países en desarrollo. Al mismo tiempo, la generación mundial de desechos sólidos, está fuertemente relacionada con el ingreso nacional bruto per cápita, de modo que puede esperarse que, en naciones donde la población tenga mayor poder adquisitivo la generación de este tipo de residuos aumentara (Geyer *et al.* 2017).

En el caso de México, los datos del Módulo de Hogares y Medio Ambiente del INEGI, de 2017, en el que se encuestaron más de 33 millones 694 mil viviendas, muestran que los productos desechables de mayor consumo en el país registran una tendencia marcada hacia bolsas plásticas, siguiendo botellas, rastrillos y varios (Fernández y Sánchez, 2019).

Algo muy importante a resaltar es que, la producción de plástico no está total o directamente relacionada con la generación de los residuos plásticos, pues también debe considerarse el tipo de polímero y la vida útil del producto fabricado (producto final). Por ejemplo, las envolturas, empaques, contenedores desechables, entre otros (en general productos plásticos de un solo uso), tiene una vida útil muy corta (aproximadamente de 6 meses a menos de un día). Esto contrasta con la edificación y la construcción, donde el uso de plástico tiene una vida media de 35 años (Jambeck *et al.* 2015). El embalaje es, por tanto, el generador dominante de residuos plásticos, responsable de casi la mitad del total mundial. Como ejemplo, en 2015, se estima que la producción de plásticos fue de 407 millones de toneladas y alrededor de tres cuartas partes (302 millones de toneladas) terminaron como residuos

(Ritchie y Roser, 2018). De forma general se ha observado que los plásticos contenidos en los residuos sólidos urbanos son mayoritariamente polietileno (PE) y polipropileno (PP) (alrededor del 60%) y en menor proporción están el poliestireno (PS), cloruro de polivinilo (PVC), polietilentereftalato (PET), poliestireno-butadieno (PS-BD), poli (metacrilato de metilo) (PMMA), etc. (Arandes *et al.* 2004).

Ninguno de los plásticos convencionales es biodegradable, lo que les permite permanecer potencialmente cientos de años en el medio pudiendo ser este un tirador de basura, un relleno sanitario o el ambiente natural. Por lo anterior, las crecientes cantidades de residuos plásticos y su eliminación eficaz y segura se han convertido en un asunto de interés público. Datos mostrados en 2015 mostraron que, de la producción de 6300 millones de toneladas métrica de plástico en todo el mundo, el 79% se acumula en vertederos, océanos y otros cuerpos de agua, el 12% se incinera y el 9% restante se ha reciclado. Aproximadamente, se estima que 12,000 millones de toneladas métrica de desechos plásticos estarán en vertederos para 2050 (Jaiswal *et al.* 2020).

Básicamente, existen tres destinos diferentes para los residuos plásticos los cuales se menciona en seguida. El primero puede ser el reciclaje, dicho proceso podría definirse como el reproceso de un residuo para que pueda ser incluido en un nuevo proceso productivo, es decir, valorizar el residuo como materia prima. Se estima que se recupera o recicla menos del 15% de los materiales plásticos residuales (Arandes *et al.* 2004). Sin embargo, el reciclaje retrasa, en lugar de evitar la disposición final. Así mismo, podría reducir la generación futura de residuos plásticos solo si sustituyera proporcionalmente la producción de plásticos nuevos, pero debido a las tendencias observadas en la producción, esta sustitución es extremadamente difícil de lograr. Además, debe sumarse que, la contaminación y la mezcla de tipos de polímeros generan plásticos secundarios de bajo valor técnico y económico, pues es sabido que los plásticos no pueden reciclarse infinitamente en comparación con otros materiales como el vidrio (Miranda, 2005 y Zink *et al.* 2017).

El segundo destino de los plásticos puede ser la destrucción térmica. Aunque existen tecnologías, como la pirólisis, que genera combustible de los residuos plásticos, prácticamente toda la destrucción térmica ha sido hasta hoy por incineración, con o sin recuperación de energía. No obstante, deben considerarse los impactos ambientales y de salud que pueden generar los incineradores de residuos si es que estos no cuentan con una buena infraestructura para el control de emisiones, siendo también muy importante el diseño y operación del incinerador. Y finalmente, los residuos plásticos se pueden desechar y

contener en un sistema gestionado, como rellenos sanitarios, o dejarlos sin contener en vertederos a cielo abierto o en el entorno natural (Geyer *et al.* 2017).

Un ejemplo que puede ilustrar de mejor forma el destino que tiene un plástico una vez que se vuelve residuo es el del PET en México, se estima que se producen cerca de 722 mil toneladas de PET anualmente, de esta cantidad se destina más del 50% de la producción para su uso en la industria de bebidas, y una vez que este plástico se vuelve residuo, aproximadamente el 50.4% se recicla, el resto es tratado por incineración, dispuesto en un relleno sanitario o tiradero de residuos (León, 2018).

En general se estima que las tasas de reciclaje más altas en 2014 se registraron en Europa (30%) y China (25%), mientras que, en los Estados Unidos, el reciclaje de plástico se ha mantenido estable en un 9% desde 2012. Por otro lado, en Europa y China, las tasas de incineración han aumentado hasta alcanzar el 40 y el 30%, respectivamente, en 2014. Sin embargo, en los Estados Unidos, la incineración de plásticos alcanzó un máximo del 21% en 1995 antes de disminuir al 16% en 2014 a medida que aumentaron las tasas de reciclaje, y las tasas de descarte se mantuvieron constantes en el 75% durante ese período. La información sobre gestión de residuos de otros 52 países sugiere que, en 2014, el resto del mundo tenía tasas de reciclaje e incineración similares a las de Estados Unidos (Geyer *et al.* 2017).

A pesar de los distintos destinos que tienen o pueden tener los residuos plásticos, cada año existen malos manejos y disposición de estos, lo que ha llevado a su acumulación en el ambiente, causando contaminación ambiental y riesgos a la salud, ya que, si se calientan o se queman, producen una gran cantidad de gases nocivos tóxicos. Si se vierten en un campo o en un vertedero, hay pruebas evidentes de que están provocando un gran cambio en el pH del suelo seguido de una alteración en la lixiviación del agua de lluvia y la humedad, dejando la tierra poco fértil. Algunas publicaciones informan que algunos productos de plástico imitan las hormonas. También se está creando un problema importante en el ecosistema marino. (Ghosh y Ray, 2013). Aunado a lo anterior, recientemente se ha demostrado que los plásticos acumulados una vez expuestos a la luz y el hidrodinamismo pierden algunas de sus características y por degradación mecánica, biológica, térmica, termo-oxidativa o por hidrólisis se fragmentan en trozos más pequeños que se denominan meso y microplásticos (Campoy y Beiras, 2019).

Algunos autores calculan que se generaron 275 millones de toneladas métricas de desechos plásticos en 192 países costeros en 2010, y de 4.8 a 12.7 millones de toneladas métricas ingresaron al océano.

Así mismo, consideran que podría haber entre 7000 y 35000 toneladas de plástico en los océanos y otros autores sugieren que más de cinco billones de piezas de plástico están flotando actualmente (Campoy y Beiras, 2019). Otros reportes estiman que en 2014 aproximadamente 0.25 Millones de toneladas de plásticos flotaban en el océano (Eriksen *et al.*, 2014).

Por otro lado, el uso de los plásticos en algunas industrias y actividades como la agricultura contribuye a la contaminación terrestre por plásticos, entre los efectos principales se ha observado degradación del suelo y acumulación de microplásticos y nanoplásticos, así mismo, los plásticos son un riesgo a la salud humana debido a la exposición a compuestos químicos dañinos que son usados como aditivos de plásticos y que sus partículas pueden funcionar como vehículos de contaminantes persistentes (Heidbreder *et al.*, 2019).

5.3. Bioplásticos

Entre las soluciones que se han propuesto para abordar la problemática de los plásticos se encuentra la introducción de los bioplásticos. Los bioplásticos son plásticos biobasados, biodegradables, o que reúnen ambas características. En general la definición de bioplástico puede ser la de un plástico que en su constitución total proviene de: a) materias primas de origen renovable y es biodegradable, b) materias primas de origen renovable y no es biodegradable, o c) materias primas de origen petroquímico y es biodegradable (Vázquez *et al.*, 2014). De acuerdo con la definición mencionada, es de esperarse que se ponga atención principalmente en los bioplásticos biodegradables pues éstos pueden ser opción para reducir la permanencia de los residuos plásticos, especialmente en el caso de los productos de vida útil corta, es decir, el reemplazo de los plásticos no biodegradables convencionales por biopolímeros totalmente biodegradables obtenidos a partir de fuentes de carbono renovables sería una solución mucho más completa para los diferentes aspectos de la problemática antes mencionada (Almeida *et al.*, 2004).

Es importante mencionar que los plásticos biodegradables tienen actualmente una capacidad de producción global de solo 4 Millones de toneladas al año (European Bioplastics, 2017). En el 2010 se estimó que la participación de los bioplásticos en el mercado fue menor al 1%, sin embargo, este sector presenta tendencia de crecimiento, con tasas anuales del 30% de la cantidad actualmente producida, aproximadamente el 65% de los bioplásticos se utiliza en envases y productos de vida corta (Vázquez *et al.*, 2014).

En este contexto las materias primas más comunes para la fabricación de artículos son el ácido poliláctico (PLA), el Polibutilén Adipato-co-Tereftalato (PBAT) y los poli-hidroxi-alcanoatos (PHA) es importante mencionar que estos bioplásticos se diseñaron para ser biodegradables y/o compostables, especificando que éstos se pueden biodegradar en condiciones de compostaje (López, 2008, Weng *et al.* 2013, Serrano, 2010 y Castellon *et al.* 2016). Igualmente, para abordar la problemática de los plásticos, varios gobiernos del mundo establecieron medias que prohíben vender artículos de un solo uso (desechables) fabricados con plásticos convencionales, dando prioridad a artículos desechables fabricados con bioplásticos compostables o biodegradables. A continuación, se realiza una breve descripción de los bioplásticos producidos comúnmente.

Ácido poliláctico (PLA). Es uno de los materiales de base biológica más conocidos. El ácido láctico se produce primero a partir de varios almidones, azúcares y otros materiales de biomasa mediante fermentación biológica, y luego se convierte químicamente en PLA.

El PLA tiene una alta transparencia y módulo elástico, se puede procesar termoplásticamente como los plásticos convencionales y se ha utilizado ampliamente en el desarrollo de productos desechables, como cubiertos, vasos y películas desechables. Es biodegradable y puede degradarse en dióxido de carbono, agua y otras moléculas pequeñas en condiciones de compostaje, contribuyendo así a simplificar el proceso de compostaje. Aunque el PLA posee las ventajas anteriores, también existen ciertos inconvenientes con respecto a su rendimiento, tales como baja resistencia al impacto, escasa resistencia al calor y es fácilmente hidrolizable.

Poliadipato-co-tereftalato de butilen (PBAT). Es un plástico biodegradable bien conocido, obtenido por policondensación entre butanodiol (BDO), ácido adípico (AA) y ácido tereftálico (PTA). Ha resultado ser la combinación más adecuada, en cuanto a excelentes propiedades y buena biodegradabilidad. su estructura química está formada por una parte alifática que es responsable por su biodegradabilidad, y una parte aromática que proporciona buenas propiedades mecánicas. Es un material flexible y tiene un alto alargamiento a la rotura, así como buenas propiedades hidrofílicas y de procesamiento. El PBAT se ha utilizado ampliamente en la producción de película soplada y sus productos de membrana asociados. Los productos basados en PBAT se han utilizado ampliamente en muchas aplicaciones, como empaques, películas para mantillo y cubiertos, etc., debido a su buena calidad, rendimiento satisfactorio y costo competitivo. Las propiedades mecánicas típicas del producto a base de almidón-PBAT y del producto a base de PLA-PBAT son bastante buenas.

Polihidroxicanoatos (PHA). Comprenden un grupo de poliésteres biodegradables naturales que son sintetizados por microorganismos incluso a través de la fermentación bacteriana de lípidos o azúcar. Son biopolímeros que algunos microorganismos acumulan como reserva de carbono y energía, son producidos cuando hay limitaciones nutricionales en el medio. El sistema genético asociado con la producción de PHAs codifica para diversas proteínas formadoras de gránulos citoplasmáticos. Los gránulos de PHAs sirven como almacenamiento de energía y carbono cuando en el medio hay abundancia de este y déficit de elementos como nitrógeno, fósforo, magnesio entre otros lo que los hace más resistentes bajo esta condición de estrés. La composición monomérica de los biopolímeros de PHAs es muy variada, depende de las rutas metabólicas por las cuales fueron sintetizados y por la fuente de carbono externa que se usa como materia prima para dicha ruta. Proviene básicamente de tres vías metabólicas: la degradación de azúcares mediante la obtención de Acetil CoA, la degradación de ácidos grasos (β -oxidación) y/o biosíntesis de ácidos grasos.

Poseen propiedades físicas y químicas muy similares a los polímeros petroquímicos. Los PHAs son termoplásticos, como el polipropileno y polietileno, es altamente cristalino, presenta propiedades similares al polipropileno (un poco más frágil y rígido que el PP) y puede moldearse por inyección o extruirse, además poseen propiedades antioxidantes, ópticas, piezoeléctricas, pero sus propiedades más importantes es que son biodegradables y biocompatibles. Las dos clases más comunes y comercializadas de PHA son: el homopolímero polihidroxitirato (PHB) y el copolímero de polihidroxitirato y polihidroxitirato conocido como polihidroxitirato-valerato (PHBV).

5.4. Degradabilidad y biodegradabilidad de plásticos

La degradación abiótica se entiende como la pérdida de propiedades que sufre un material debido al efecto de factores externos y a su composición química, la forma y la velocidad a la que ocurre la degradación es diferente para cada material y cada entorno; mientras que la biodegradación es producida por microorganismos (hongos, bacterias, entre otros) o por las enzimas o sustancias que alteren el medio y que son generadas en sus procesos biológicos. El proceso, generalmente se lleva a cabo en materiales que contienen una proporción alta de carbono en sus moléculas (Vázquez *et al*, 2018). Es decir, la biodegradación es el proceso mediante el cual las sustancias biodegradables son asimiladas por microorganismos y reintroducidas al ambiente. Dichas sustancias son transformadas en compuestos simples como el bióxido de carbono (CO_2) o el metano (CH_4), a través de un proceso

conocido como mineralización. En la figura 6 se pueden observar las ecuaciones generales que describe el proceso de biodegradación de materia orgánica de forma aeróbica y anaeróbica.

Degradación aerobia:
$\text{Sustrato} + \text{O}_2 \rightarrow \text{Biomasa} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$
Degradación anaerobia:
$\text{Sustrato} + (\text{NO}^{-3}, \text{SO}_4^{2-}, \text{Fe}^{+3}, \text{Mn}^{4+}, \text{CO}_2) \rightarrow \text{Biomasa} + \text{CO}_2 + (\text{N}_2, \text{Mn}^{2+}, \text{S}^{2+}, \text{Fe}^{2+}, \text{CH}_4)$

Figura 6. Ecuaciones generales de biodegradación de materia orgánica de forma aerobia y anaerobia.

Generalmente la biodegradación de un plástico biodegradable ocurre en forma simultánea a otros procesos de degradación como la causada por la radiación UV, la temperatura, la fricción o la humedad. Ordinariamente la biodegradabilidad de estos materiales inicia con la interacción ambiental la cual desactivada su estructura a nivel físico y químico posteriormente son fácilmente asimilados, técnicamente, la degradación de los plásticos biodegradables se logra a través de procesos termo o foto oxidativos y después una acción biológica de microorganismos selectos, hasta llevarlos a moléculas de CO₂ (Yang *et al.*, 2014). El grado de biodegradación de los materiales plásticos está altamente influido por las condiciones del ambiente de localización y por las comunidades microbianas que ahí se encuentren (Emadian *et al.*, 2017).

Por lo anterior es de esperarse que para considerar a un plástico como biodegradable es necesario garantizar que alcanza una biodegradación completa en un periodo de tiempo establecido. En la figura 7 se muestra un esquema general de la biodegradación de plásticos.

La biodegradación de plásticos implica normalmente los siguientes pasos: 1. Fijación de microorganismos a la superficie del plástico (Los microorganismos pueden adherirse a la superficie, si la superficie del polímero es hidrófila). 2. Crecimiento de microorganismos utilizando el polímero como fuente de carbono. 3. Degradación primaria del plástico. 4. Degradación final (Ahmed, *et al.* 2018).

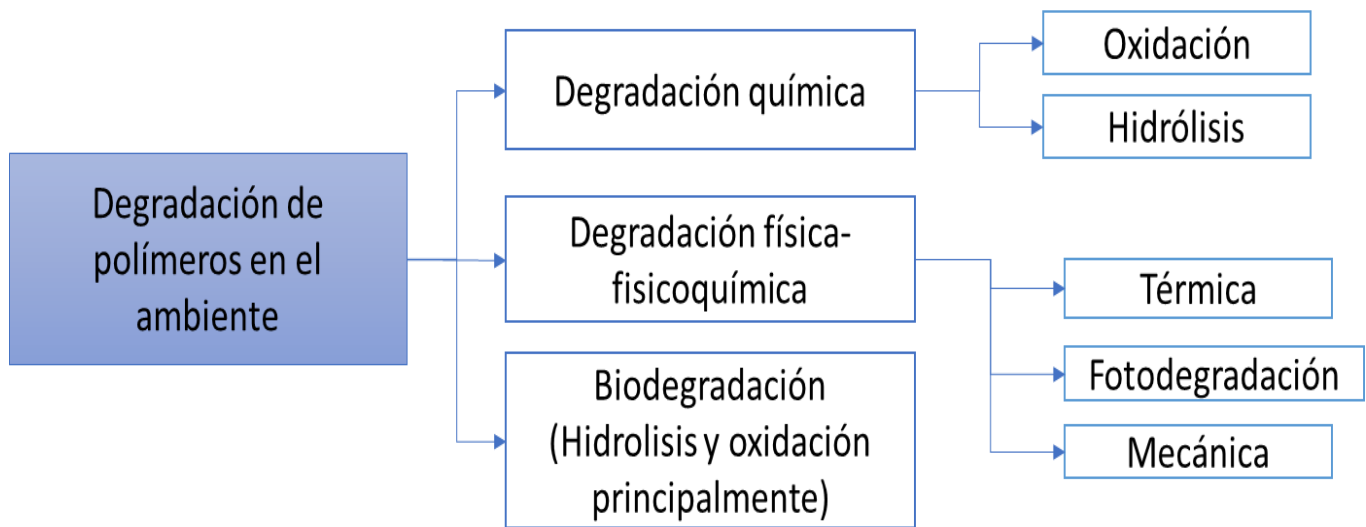


Figura 7. Representación esquemáticamente general de la degradación de polímeros durante un período de tiempo.

Fuente: Arutchelvi, J. *et al.* (2008).

Existe una gran cantidad de microorganismos tales como: hongos, bacterias y actinomicetos que pueden interactuar con estos materiales y biodegradarlos. Sin embargo, como se ha mencionado al aumentar el tamaño y ramificación de las moléculas del plástico, la actividad se limita. Hay algunas bacterias que pueden descomponer los plásticos, generalmente contienen enzimas llamadas oxigenasas, que pueden agregar oxígeno a una cadena de carbono larga. Esto logra desestabilizar la carga eléctrica local y el plástico se puede empezar a descomponer. No obstante, las oxigenasas no se encuentran con demasiada frecuencia porque pueden destruir fácilmente las moléculas de las bacterias que las transportan (Ghosh y Ray, 2013).

El proceso se desencadena cuando el plástico (polímero) es convertido en monómeros, ya sea por acción ambiental o enzimática (despolimerización), después estos monómeros pueden sufrir otras transformaciones por acción enzimática hasta ser asimilados por los microorganismos y concluir la mineralización. Los productos finales de esta degradación son el CO_2 , H_2O y la biomasa en condiciones aeróbicas; en condiciones anaeróbicas también pueden ser degradados y los productos primarios entonces son CO_2 , H_2O , CH_4 y biomasa bajo un metabolismo metanogénico o H_2S , CO_2 y H_2O en condiciones sulfidogénicas (Arutchelvi *et al.* 2008). En la figura 8 se muestra un esquema general del proceso incluyendo la despolimerización.

El proceso de despolimerización es necesario para la biodegradación de los plásticos, debido a que las estructuras grandes no pueden atravesar la membrana celular de los microorganismos. Como ejemplo, la despolimerización por acción del ambiente ha sido reportada para plásticos como policarboxilatos, polietileno, poli tereftalato, poli ácidos lácticos y sus copolímeros, poli dimetilsiloxanos, etc. Por otro lado, desde el punto de vista enzimático las depolimerasas intracelulares y extracelulares están involucradas en la despolimerización de los plásticos. Las depolimerasas extracelulares son las encargadas de convertir los plásticos en sus respectivos monómeros. En la forma más simple estas moléculas son lo suficientemente pequeñas como para atravesar la membrana celular de los microorganismos. Estos luego son utilizados como fuentes de carbono y energía (Muthukumar y Veerappapillai, 2015).

Aunado a lo anterior, se puede considerar que una vez que el plástico es liberado al ambiente existen dos vías por las cuales un puede ser biodegradado siendo estas: 1. Acción directa: En este caso, el deterioro de los plásticos sirve como sustancia nutritiva para el crecimiento de los microorganismos. 2. Acción indirecta: Puede observarse influencia ambiental y de enzimas de microorganismos que no los asimilaban (por ejemplo, causando decoloración o deterioro adicional) y posterior asimilación por otros microorganismos (Ghosh y Ray, 2013).

Para cualquier de las dos vías, tenemos que referirnos a acción enzimática producida por los microorganismos. Por ejemplo, la lipasa, proteinasa K, pronasa, hidrogenasa, son enzimas importantes secretadas por microorganismos para la biodegradación plástica y la posterior asimilación del carbono. También la oxidoreductasa, lacasa y peroxidasa, pueden degradar el polímero plástico (Raziyafathima *et al.*, 2016). En contraste cuando existe acción de la segunda vía en la biodegradación de plásticos, en muchos casos solo se observa un cambio en la estructura del polímero o la composición plástica mediante biodeterioro o biocorrosión. El resultado final en ambos casos es una pérdida de la integridad estructural como resultado de una disminución drástica del peso molecular (Gu, 2003).

La biodegradación de plásticos por bacterias y hongos procede de manera diferente según las características y condiciones del medio donde se depositen. Los diferentes factores que dirigen la biodegradación son: tipo de microorganismo, y las características y naturaleza del plástico, así como factores ambientales. Por características del plástico se entiende movilidad, cristalinidad, peso molecular, el tipo de grupos funcionales y otros sustituyentes presentes en su estructura, y aditivos o plastificantes añadidos. Por ejemplo, con el aumento del peso molecular, existe disminución de la

solubilidad del polímero que lo hace desfavorable para el ataque microbiano. Por otro lado, la biodegradabilidad mejora cuando se presenta hidrólisis abiótica y fotooxidación que provocando degradación física, como ya fue mencionado. Estos procesos mejoran las condiciones para que el plástico pueda ser biodegradado, ya que reducen su tamaño; facilitando la degradación microbiana. Finalmente puede mencionarse que la presencia de fuentes de glucosa reduce la tasa de biodegradación, pues este sustrato es una fuente de carbono preferida por los microorganismos que cualquier plástico. La última degradación de polímeros puede tardar varios cientos de años. Es importante mencionar que los aditivos, antioxidantes y otros estabilizadores añadidos a los plásticos comerciales pueden ser tóxicos para los organismos o pueden ralentizar la tasa de biodegradación (Alshehrei, 2017).

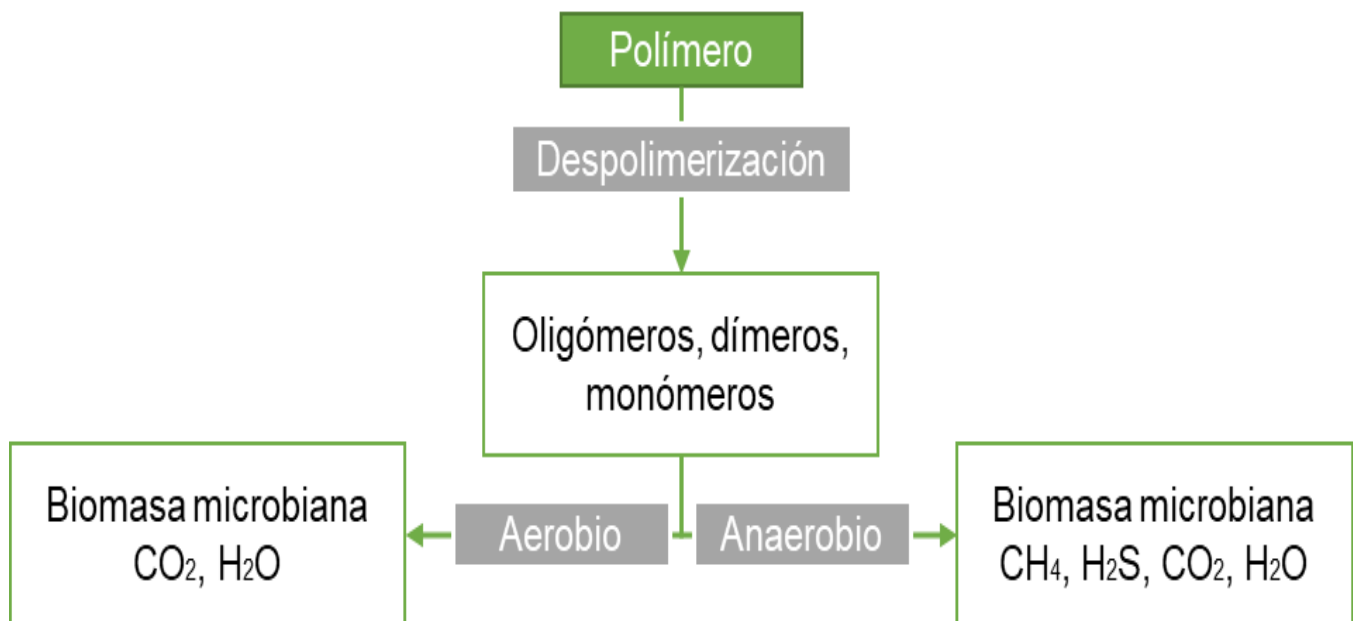


Figura 8. Rutas de biodegradación de un plástico desde la despolimerización.

Fuente: Alshehrei, (2017).

Existe varias especies de microorganismos que pueden degradar plásticos, sin embargo, es importante mencionar que se han descrito más hongos que degradan plásticos en comparación con bacterias. En las tablas 1 y 2 se muestran algunos de los microorganismos reportados junto al plástico que degradan.

Tabla 1. Bacterias reportadas como degradadoras de plásticos

Plástico	Microorganismo
Poliétileno (PE)	<i>Brevibacillus borstelensis</i>
	<i>Rhodococcus</i> sp.
	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
	<i>Comamonas acidovorans</i> TB-35
Cloruro de polivinilo (PVC)	<i>Pseudomonas putida</i> AJ
	<i>Ochrobactrum</i> TD
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> B-22
Copoliéster BTA	<i>Thermomonospora fusca</i>
Poli (3-hidroxibutirato- co -3-mercaptopropionato)	<i>Termodepolímeros de Schlegelella</i>
Poli (3-hidroxibutirato)	<i>Pseudomonas lemoignei</i>
Poli (3-hidroxibutirato- co -3-mercaptopropionato)	<i>Pseudomonas indica</i> K2
Poli (3-hidroxibutirato), poli (3-hidroxibutirato- co -3-hidroxivalerato)	<i>Streptomyces</i> sp. SNG9
Poli (3-hidroxibutirato- co -3-hidroxipropionato)	<i>Ralstonia pikettii</i> T1
	<i>Acidovorax</i> sp. TP4
Poli (3-hidroxibutirato), poli (3-hidroxipropionato), poli (4-hidroxibutirato), succinato de polietileno, adipato de polietileno	<i>Alcaligenes faecalis</i>
	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
	<i>Comamonas acidovorans</i>
	<i>Alcaligenes faecalis</i>
Poli (3-hidroxibutirato)	<i>Termodepolímeros de Schlegelella</i>
	<i>Caenibacterium thermophilum</i>
	<i>Clostridium botulinum</i>
Poli (3-hidroxibutirato- co -3-hidroxivalerato)	<i>Clostridium acetobutylicum</i>
	<i>Clostridium botulinum</i>
Policaprolactona	<i>Clostridium acetobutylicum</i>
	<i>Amycolatopsis</i> sp.
	<i>Brevibacillus brevis</i>
Almidón / poliéster	<i>Streptomyces</i>

Fuente: Ghosh y Ray, (2013).

Tabla 2. Hongos reportados como degradadores de plásticos

Plástico	Microorganismo
Poliétileno (PE)	<i>Brevibacillus borstelensis</i>
	<i>Rhodococcus ruber</i>
Poliuretano (PU)	<i>Penicillium simplicissimum</i> YK
	<i>Comamonas acidovorans</i> TB
	<i>Curvularia senegalensis</i>
	<i>Fusarium solani</i>
	<i>Aureobasidium pullulans</i>
	<i>Cladosporium</i> sp.
Polibutileno succinato (PBS)	<i>Pseudomonas chlororaphis</i>
	<i>Amycolatopsis</i> sp. HT-6
	<i>Microbispora rosea</i>
	<i>Excellospora japonica</i>
	<i>E. viridilutea</i>
	<i>Schlegelella thermodepolymerans</i>
Policaprolactona (PCL)	<i>Caenibacterium thermophilum</i>
	<i>Clostridium botulinum</i>
	<i>Clostridium acetobutylicum</i>
Cloruro de polivinilo (PVC)	<i>Pseudomonas putida</i>
	<i>Ochrobactrum</i> TD
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> B-22,
	<i>Aspergillus niger</i> van Tieghem F-1119
Ácido poliláctico (PLA)	<i>Fusarium solani</i>
	<i>Fusarium moniliforme</i>
	<i>Penicillium roquefort</i>
	<i>Amycolatopsis</i> sp.
	<i>Bacillus brevis</i>
	<i>Rhizopus delemere</i>

Fuente: Bahl, et al. (2021).

5.5. Evaluación de la biodegradabilidad y compostabilidad

La evaluación de la biodegradabilidad de los bioplásticos ha sido un difícil reto científico y técnico debido a la variedad de materiales degradables empleados y ambientes, con el fin de estandarizar las técnicas y criterios de evaluación, una serie de normas fueron establecidas por los diferentes organismos de normalización que también se utilizan como base para los sistemas de certificación, dichas normas verifican la biodegradabilidad y la compostabilidad de los materiales plásticos (Krzan et al., 2006).

Entre las normas más conocidas y utilizadas a nivel mundial pueden mencionarse las siguientes: EN 13432, AS 4736, ISO 17088 y ASTM D6400, dichas normas consideran dentro de la evaluación criterios tales como: a) Desintegración. el material debe desintegrarse en un 90 % en fragmentos menores a un tamaño específico (usualmente 2x2 mm), dentro de un plazo determinado (usualmente 12 semanas); b) Degradación química. debe cumplir con un nivel de conversión del carbono orgánico en CO₂, dentro de un plazo determinado. La mayoría de las normas definen en un compostaje industrial un 90 % de degradación en 180 días a 58°C.; c) Ecotoxicidad. se compara el crecimiento de plantas en un suelo control (obtenido de residuos orgánicos que no contiene el material de ensayo), con una muestra de compost del mismo residuo orgánico que contiene 10 % de material de ensayo, añadido al comienzo del compostado. No deben presentarse diferencias significativas en el crecimiento y desarrollo de las plantas en los dos medios. La norma AS 4736 incluye la prueba de lombriz, en la que se usa un compost con presencia de lombrices y éstas deben sobrevivir a lo largo de la prueba; y d) Características químicas. el plástico debe tener concentraciones de metales pesados (Cu, Zn, Ni, Cd, Pb, Hg, Cr, Mo, Se, As) inferiores al 50 % de las prescritas para compost en el país donde se vende el producto. En este aspecto, la norma europea EN 13432 es más exigente que las normas estadounidenses al incluir más materiales en la lista de restricciones (Rodríguez, 2012 y Campuzano *et al.*, 2018).

Sin embargo, se puede mencionar que no existe una prueba general de biodegradabilidad, y las que existen como las que se mencionaron se refieren a un ambiente específico, miden la biodegradación de los materiales comparándolos con otros generalmente con la celulosa, las pruebas se realizan en laboratorio, y no reflejan las condiciones reales de los ambientes estudiados, no permiten evaluar la biodegradación junto con otros fenómenos de degradación, no dan como resultado una estimación del tiempo que tardará en biodegradarse un material en un entorno estudiado, pueden durar semanas o meses, es decir, no hay pruebas rápidas de biodegradabilidad (Vázquez *et al.*, 2018). Aunado a esto, se mencionan que algunos de los materiales comercializados como biodegradables pueden ser tóxicos al medio produciendo que no se degraden completamente (Gómez y Sedano, 2019), y otros estudios también han demostrado que de los bioplásticos se pueden generar microplásticos y nanoplásticos dañinos para organismos (Gonzales *et al.*, 2019).

5.6. Bolsas compostables y biodegradables

Como ya fue mencionado anteriormente los artículos plásticos de un solo uso entre ellos las bolsas forman parte importante de los residuos sólidos municipales en todo el mundo, así mismo, se estima que alrededor de un tercio de los plásticos producidos a nivel mundial se utilizan en la fabricación de artículos desechables o de un solo uso, como envolturas, bolsas, vasos, bandejas y materiales de embalaje, lo que ha hecho y hace insostenible la gestión de este tipo de residuos. La Agencia Ambiental de Estados Unidos ha calculado que en el mundo se producen entre 500.000 millones y un billón de bolsas de plástico por año. (Castellon *et al.*, 2016).

Por lo anterior, a nivel mundial la industria de producción de bolsas plásticas viene siguiendo una tendencia que tiene la intención de disminuir los impactos ambientales generador por la acumulación de bolsas plásticas en el ambiente la cuales la producción de bolsas biodegradables y/o compostables.

Las bolsas biodegradables son bolsas que fueron elaboradas con materia prima de origen renovable o no renovable y que se biodegradan en condiciones ambientales y en un determinado tiempo resultado de la acción de microorganismos naturales como bacterias y hongos, no obstante, estas bolsas no están diseñadas para ser biodegradables en condiciones de compostaje por tanto no son equivalentes a una bolsa compostable (no se biodegradan en una composta), de forma general estas pueden ser persistentes en el ambiente.

En contra parte, las bolsas compostables son aquellas que fueron elaboradas con materia prima de origen renovable o no renovable pero que sufre degradación por medios biológicos durante un proceso de compostaje, resultando en CO₂, agua, compuestos inorgánicos, y biomasa a una tasa comparable con otros materiales compostables conocidos (por ejemplo, el almidón o la celulosa) sin dejar residuos visibles o tóxicos, y aportando nutrientes al suelo (Rojas y Bravo, 2020, NMX-E-273-NYCE-2019).

De acuerdo con las definiciones anteriores se entiende que el origen del o de los polímeros que componen a este tipo de bolsas no es de mayor relevancia, y el único requisito es el mecanismo o forman en que se integran al ambiente (tiempo, toxicidad, etc.), es decir, el proceso de degradación que llevan a cabo (Rojas y Bravo, 2020). Para obtener esta categoría la bolsa debe cumplir las pruebas determinadas por la normatividad establecida que fueron mencionadas en el punto anterior (3.5).

5.7. Leyes y normas relacionadas con bolsas plásticas

Aunque el uso de las bolsas plásticas conlleva un gran coste ambiental, millones de bolsas de plástico se consumen en todo el mundo a diario, por esto diferentes países han tomado medidas para disminuir o eliminar su consumo. Por ejemplo, en España la Ley de residuos y suelos contaminados, presenta un calendario de sustitución de bolsas comerciales de un solo uso de plástico no biodegradable, el cual esperaba que para el 2018 existiera una sustitución total de estas bolsas; en Italia se prohibió su uso en supermercados desde enero de 2011; en Taiwán, el gobierno prohibió a los supermercados suministrarlas de forma gratuita, y en países como Mumbay e India están prohibidas (Sánchez, 2014).

En Latinoamérica, distintos países como México y Argentina tienen proyectos legislativos que buscan restringir o prohibir el uso de las bolsas comúnmente utilizadas en las compras domésticas, reemplazándolas por bolsas biodegradables, oxobiodegradables o de alguna característica similar (Taller ecologista, 2008).

Debido a la problemática del impacto ambiental y legislativo mencionado los plásticos biodegradables y compostables han generado gran interés, por lo que se han desarrollado plásticos que aseguran cumplir con estas características. Dichos plásticos deben cumplir con métodos confiables, seguros y fundamentados que permitan realizar la evaluación.

Algunos organismos internacionales de estandarización, como ASTM e ISO, han desarrollado metodologías para evaluar la biodegradabilidad de los plásticos, para diferentes condiciones (Vázquez *et al*, 2018). A continuación, se muestra la tabla 1 donde se resume la normatividad internacional común:

Tabla 3. Normatividad internacional que establece métodos para evaluar la biodegradabilidad

NORMATIVA	MÉTODO DE PRUEBA
ASTM D5338-11	Determinación de la biodegradación aerobia de materiales plásticos en condiciones de composteo controlado, incorporando temperaturas termofílicas.
ASTM D5511-12	Determinación de la biodegradación anaerobia de materiales plásticos en condiciones de digestión anaerobia con alto contenido de sólidos.
ASTM D5988-12	Determinación de la biodegradación aerobia en suelo.
ASTM D7475-11	Determinación de la degradación aerobia y anaerobia de materiales en condiciones de relleno mediante pruebas aceleradas en biorreactor.
ASTM D5526-11	Determinación de la biodegradación de materiales plásticos en condiciones aceleradas de relleno.
ISO 13975:2012	Determinación de la biodegradación anaerobia total de materiales plásticos en sistemas controlados de digestión de lodos – Método por medición de producción de biogás.
ISO 14855-1:2012	Determinación de la biodegradabilidad aeróbica final de los materiales plásticos en condiciones de compostaje controladas. Método por análisis del dióxido de carbono desprendido. Parte 1: Método general.
ISO 14855-2:2018	Determinación de la biodegradabilidad última aeróbica de materiales plásticos bajo condiciones controladas de compostaje – Método por análisis de dióxido de carbono desprendido. Parte 2: Medición gravimétrica de dióxido de carbono desprendido en una prueba a escala laboratorio.
ISO 15985:2004	Determinación de la biodegradación anaerobia total y desintegración en condiciones de digestión anaerobia con alto contenido en sólidos – Método por análisis del biogás.
ISO 17556:2012	Determinación de la biodegradabilidad aerobia total de materiales plásticos en suelo mediante la medición de O ₂ en un respirómetro o la masa generada de CO ₂
ISO 14853:2005	Determinación de la biodegradación anaerobia total de materiales plásticos en sistemas acuosos – Método por medición de la producción de biogás.

Fuente: Vázquez *et al*, 2014.

En México no existen normas oficiales relacionadas con la biodegradabilidad de plásticos, sin embargo, la industria del plástico ha desarrollado la norma *NMX-E-273-NYCE-2019 Industria del plástico – plásticos compostables – especificaciones y métodos de prueba* la cual fue publicada en abril del 2020. Es importante mencionar que, ante la preocupación general por el incremento de los residuos plásticos, la ciudad de México y algunos municipios han modificado su legislación, restringiendo el uso de bolsas de plástico a menos que éstas sean biodegradables o compostables.

Sin embargo, existen algunas problemáticas en la legislación tales como: 1) se habla de biodegradabilidad, sin especificar en qué tipo de ambiente tendría que llevarse a cabo, 2) no existe certificación de la biodegradabilidad, además que, se asume que un plástico producido a partir de

recursos naturales renovables es biodegradable, pero en la realidad no siempre es así (Vázquez *et al*, 2018).

5.8. Ecotoxicidad

La toxicología ambiental es un campo de estudio interdisciplinario que examina los mecanismos biológicos y químicos por los cuales algunas sustancias clasificadas como xenobióticas (sustancias encontradas en organismos que no se producen de forma natural y que no deberían estar presentes) interactúan con la biósfera (Hanrahan, 2012). Truhaut en 1969 utilizó el término ecotoxicología, para indicar una disciplina científica que puede describir los efectos tóxicos de diversos agentes químicos sobre los organismos vivos hasta nivel de ecosistema.

Dicha disciplina ha establecido sus métodos de estudio considerando el destino o el efecto causado por las sustancias tóxicas. El destino ambiental incluye el transporte, la transformación y degradación en el agua, suelo, aire, biota, sedimentos e interfaces (Sánchez-Bayo, 2011). Es decir, la investigación realizada por este campo busca predecir el riesgo ecológico, magnitud y dirección de los contaminantes, así como las afectaciones ocasionadas a los diferentes factores abióticos, las especies y los factores que regulan la estructura de la comunidad y de sus procesos (Arias, 2018).

En general la evaluación de los efectos causados por las sustancias tóxicas en los ecosistemas, se realiza utilizando organismos y observando los efectos a la exposición, y determinando las consecuencias biológicas. Los efectos de las sustancias tóxicas, pueden ser agudos o crónicos dependiendo el tipo de interacción que tengan los organismos con éstas pudiendo ser concentraciones altas o bajas y tiempos de exposición largos o cortos. (Arias, 2018).

Principalmente la toxicidad de una sustancia se mide con especies animales o vegetales, y generalmente se evalúa el crecimiento, la reproducción y la mortalidad a escala de laboratorio. Es importante mencionar que los resultados obtenidos en estas evaluaciones son muy específicos y dan una idea de los efectos de las sustancias sobre los organismos, no obstante, su efecto en poblaciones y comunidades naturales es más complejo. Aplicar dichos resultados a una población o ecosistema involucra mucha incertidumbre, ya que en un escenario real aparecen más variables tales como mezcla de contaminantes o cambios de concentración entre otros (Tarazona *et al.*, 2014).

En la actualidad se han generado muchas metodologías de prueba, y de interpretación, además se han creado modelos de ecotoxicidad en diferentes ambientes (acuáticos, vida silvestre, sedimentos, suelo, plantas, paisaje y algas). Como ha sido mencionado, es de vital importancia la evaluación de la ecotoxicidad de las distintas sustancias o materiales que pretenden ser usados y liberados al ambiente, y como es de esperarse los bioplásticos no son la excepción, su potencial tóxico generalmente es evaluado a partir de estándares internacionales, los cuales establecen los requisitos y características que debe tener un plástico biodegradable o compostable, así como las metodologías de prueba (Álvarez *et al* 2012). La normatividad comúnmente utilizada para estas pruebas a nivel internacional se muestra en la tabla 2.

Tabla 4. Estándares internacionales para evaluar ecotoxicidad

	ESTÁNDAR	DESCRIPCIÓN
ECOTOXICIDAD	ISO 6341:2012	Determinación de la inhibición de la movilidad de <i>Daphnia magna</i> Straus (<i>Cladocera</i> , Crustacea) – Pruebas de toxicidad aguda.
	OECD 208	Pruebas en plantas terrestres: prueba de emergencia y crecimiento de plántulas.
	OECD 201	Algas de agua dulce y cianobacterias, prueba de inhibición del crecimiento
	OECD 207	Lombrices de tierra, pruebas de toxicidad aguda
	BS-8472:2011	Métodos para la evaluación de la oxo-biodegradación de plásticos y de la fitotoxicidad de los residuos en condiciones controladas de laboratorio
	AS 4736:2006	Prueba de toxicidad con lombrices

Fuente: Arias, 2018.

5.9. Características y ciclo de vida de *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio*

Los escarabajos *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio* son utilizadas como suplemento alimenticio para animales de ornato y humanos, debido a su alto contenido de ácidos grasos, proteínas y minerales, también se han manipulado para evaluar el comportamiento de fitopatógenos o como macro degradadores de algunos plásticos (Munguia *et al.*, 2014, Benzertihá *et al.*, 2019). A continuación, se realiza una breve descripción de cada especie.

5.9.1. *Tenebrio molitor*

Tenebrio molitor (L.) es una especie de distribución cosmopolita. Las larvas recientemente mudadas se utilizan como alimento de mascotas: peces tropicales, aves, reptiles y pequeños mamíferos insectívoros. Debido a que su cría en laboratorio es sencilla, es también un insecto adecuado para estudios de fisiología (Damborsky *et al.*, 1999). Es un insecto del orden Coleoptera de la familia Tenebrionidae, es de color castaño oscuro de aproximadamente 18 mm de largo y 4 mm de ancho; Las larvas son cilíndricas, duras con pequeñas patas torácicas. Vive en harinas y subproductos de granos, también consumen cuero y restos de carne seca (Sarmiento, 2018).

El ciclo de vida del *T. molitor* incluye las siguientes etapas:

- 1) Huevo. Aproximadamente son 10 días de incubación. Al primer día los huevos son translúcidos con una cubierta lisa muy frágil.
- 2) Larva. La fase larval dura de 2 a 3 meses aproximadamente, creciendo hasta la madurez.
- 3) Pupa o crisálida. Esta etapa dura 20 días, se puede observar una pupa endurecida de forma triangular curvada y prácticamente inmóvil.
- 4) Escarabajo joven. Los escarabajos salen de la pupa pasados los 20 días, estos viven aproximadamente de 2 a 3 meses, nacen color marfil y a los 2-3 días se tornan color negro-marrón.
- 5) Escarabajo adulto. El adulto es un escarabajo negro de hábitos nocturnos, sexualmente maduro a los 10 - 12 días. Concluyendo, el ciclo de vida de esta especie se cumple en 5 meses aproximadamente (Sarmiento, 2018).

En condiciones de vida libre las hembras ovipositan alrededor de 580 huevos durante su vida. El período de incubación tarda entre 5 y 20 días. Las larvas adquieren su máximo desarrollo entre los 89 y 100 días, después de mudar entre 9 y 18 veces (Menéndez, 2001). El ciclo completo de huevo a adulto, toma entre 300 y 350 días según las condiciones ambientales (Castro y Bolívar, 2010).

Por otra parte, en condiciones de cría a 28°C las etapas del ciclo de vida duran aproximadamente: 10 días la incubación, 10 semanas el período larval, 20 días el estadio de pupa y los escarabajos no suelen vivir más de 20 días. Lo cual da un total de tres meses aproximadamente en completarse el ciclo (Sarmiento, 2018). En la figura 9 se muestra el ciclo de vida ilustrado de *T. molitor*.

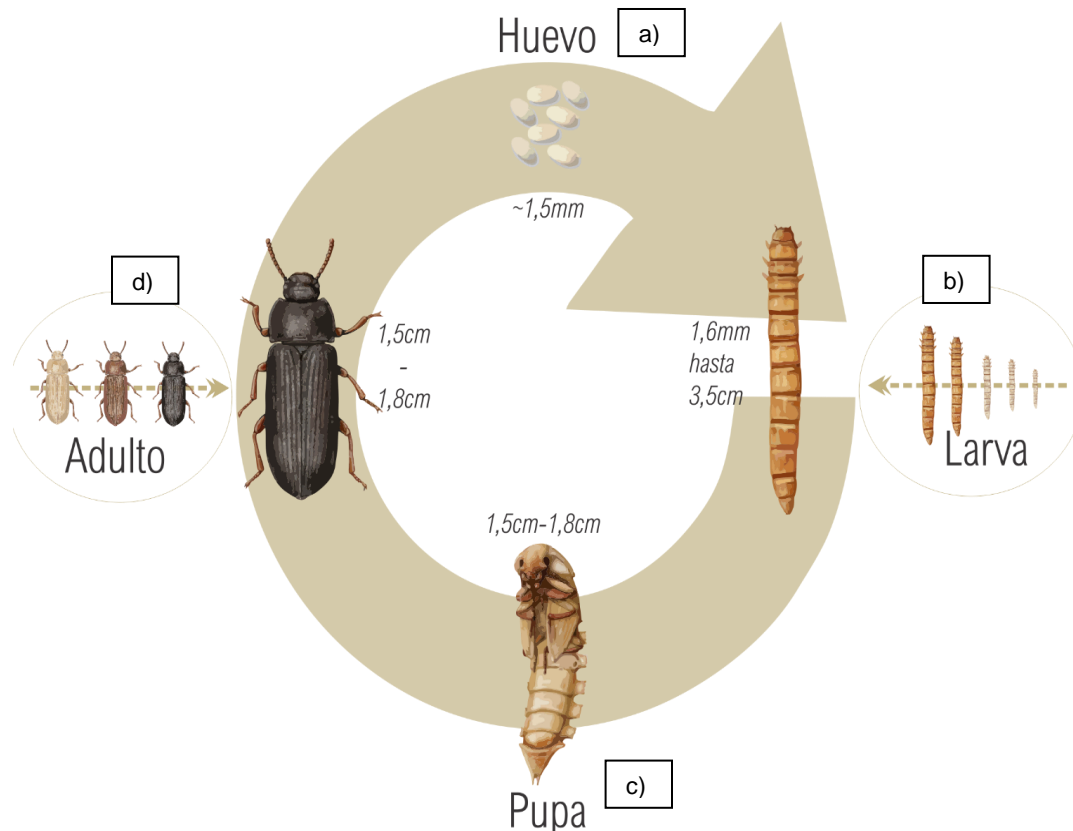


Figura 9. Ciclo de vida de *Tenebrio molitor*. A) huevos previos a eclosionar, b) periodo de desarrollo larval, c) etapa de pupa o crisálida, d) adultos listos para la reproducción y deposición huevos

5.9.2. *Zophobas morio*

El escarabajo *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae) al igual que *T. molitor* resulta ser un alimento muy importante en el mantenimiento de animales insectívoros de toda clase. Se distribuye en Centro y Sudamérica, y ahora es cultivado en casi todas partes del mundo.

Su ciclo de vida es holometábolo sus larvas son muy similares en aspecto a las de *T. molitor*, pero su tamaño difiere notablemente. También su desarrollo es más largo, desde que sale del huevo hasta que

se convierte en adulto pueden transcurrir 3 meses o más, lo cual depende de las condiciones en las que se mantengan y del alimento empleado, es decir su reproducción y desarrollo es más lento, las pupas son grandes, de color blanquecino y con muy poca movilidad, los adultos al principio son blancos, después una vez que se han mecanizado son totalmente negros y su exoesqueleto está completamente seco y duro (Ramos *et al.*, 2012).

Su tamaño varía dependiendo su etapa de vida por lo que en seguida se menciona su ciclo de vida:

1) Huevo. La hembra contiene cerca de 400 huevos y coloca entre 20 a 60 huevos por evento reproductivo. Los huevos miden aproximadamente 1,2 a 1,4 mm de largo y son color blanco vidrioso.

2) Larva. Las larvas recién nacidas tienen miden de 2 a 2,5 mm son color amarillo, y las larvas de ultimo estadio miden aproximadamente 60 mm de largo y 5 a 6 mm de ancho, son color amarillo no presentan pelos y pesan aproximadamente 1,5 g.

3) Pupa o crisálida. Tiene una talla aproximada de 28 a 30 mm de largo, y es de color hueso a blanquecina.

4) Adulto. Como escarabajo adulto mide de 30 a 34 mm de largo y 10-12 mm de ancho, y es de color negro. La especie presenta dimorfismo sexual poco evidente, pero se puede notar que la cabeza del macho es ligeramente más ancha, y la hembra es más grande que el macho. Son de hábitos Nocturnos su esperanza de vida es de 1 año como adulto (Schulte, 1996). En la figura 10 se muestra el ciclo de vida de *Z. morio*.

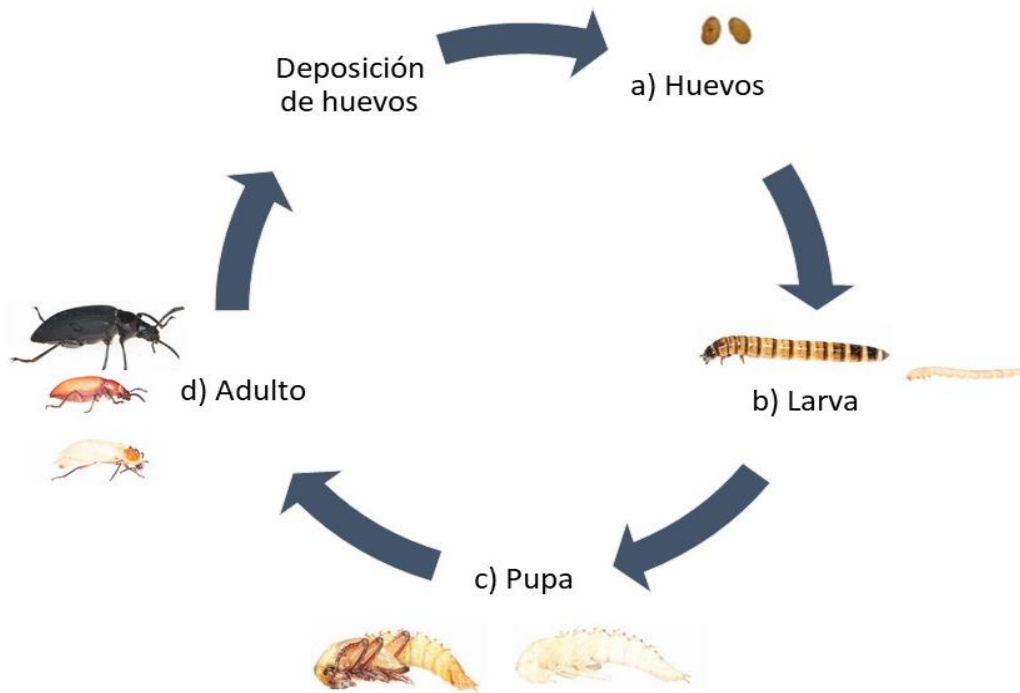


Figura 10. Ciclo de vida de Zophobas morio a) huevos previos a eclosionar, b) periodo de desarrollo larval, c) etapa de pupa o crisálida, d) adultos listos para la reproducción y deposición huevos

6. ANTECEDENTES

En 2021 Peng et al., realizaron un estudio donde examinaron la viabilidad y desarrollo de un método de gestión de residuos de PLA utilizando larvas de *Tenebrio molitor* las cuales fueron alimentadas con este polímero para acelerar su biodegradación y recuperación en forma de biomasa de *T. molitor*. Los resultados mostraron que *T. molitor* fue capaz de asimilar el polímero de forma pura y en mezclas con salvado de trigo y 10 %, 20 %, 30 % y 50 % de PLA, peso/peso. También se observó que la alimentación con mezclas de PLA y salvado de trigo apoyó el desarrollo larvario con tasas de supervivencia más altas y disminuyó las tasas de canibalismo en comparación con dieta de PLA puro.

De igual forma reportaron una eficiencia de conversión de PLA del 90,9 % con una dieta 100 % de PLA y alrededor de 81,5 a 86,9 % con mezclas de salvado de PLA, logrando un rendimiento máximo de biomasa de insectos con una proporción de PLA de 20%.

Finalmente observaron evidencia de biodegradación del PLA mediante la detección de modificaciones químicas y térmicas, además se observaron modificaciones en las comunidades microbianas alojadas en el intestino del insecto una vez que fueron alimentadas con PLA.

En el 2018 Yang *et al.*, realizaron un estudio sobre la biodegradación de residuos de poliestireno (PS) usando las larvas de *Tenebrio molitor* enfocándose en el análisis de los factores que afectan las tasas biodegradación, en los que se consideraron dos residuos de comida simulados, tres temperaturas y siete tipos de desechos de PS; y la habilidad que presentan las larvas en completar su ciclo de vida siendo alimentadas con PS. El estudio evidenció que las larvas que solo fueron alimentadas con PS en un periodo de entre 2 y 3 semanas lograron estabilizar valores por arriba del 65%, usando tiempos de residencia de 12-15 horas. Las larvas que fueron alimentadas con 10% p/p de PE y 90% p/p de salvado, y con temperatura controlada de 25 °C mostraron tasa de degradación de casi el doble de las que solo fueron alimentadas con solo PS. Estas larvas que fueron alimentadas con una mezcla de sustrato completaron de manera satisfactoria su ciclo de vida (huevos, larva, pupa y escarabajo), y la segunda generación mostró una favorable capacidad de degradación del PS. Así también en el estudio se menciona que los residuos de la degradación muestran parcial degradación y oxidación.

En ese mismo año otro grupo de investigadores académicos, de la universidad de Stanford, determinaron qué plásticos eran más susceptibles a la biodegradación usando gusanos *Tenebrio molitor*. El estudio se concentró en evaluar las tasas de degradación de polietileno (PE) y mezclas de éste con PS. Los resultados encontrados muestran que las tasas de degradación del PE son

comparables a las de PS; mientras que el balance de masas indico una conversión de alrededor de 50% del PE ingerido a CO₂ y una pérdida de masa del polímero de 40%. Así también sus resultados incluyeron un análisis de biota intestinal del gusano, el cual reveló que las bacterias *Citrobacter* sp. y *Kosakonia* sp. están fuertemente relacionadas con la degradación ambos polímeros; además sugirieron que la adaptabilidad de los microorganismos permite la degradación de plásticos químicamente diferentes (Brandon *et al.*, 2018).

Por otro lado, en Polonia en el 2017 otro grupo de investigadores realizaron un estudio sobre la degradación de distintos tipos de poliestireno usando gusanos de la harina. Los resultados mostraron que los materiales (poliestireno) de aislamiento usados en la construcción y los empaques de comida fueron los más digeridos por el gusano *Tenebrio molitor*. Así también en este mismo se plantea, la probabilidad de que la biodegradación este estrictamente conectada con los cambios en la diversidad de las bacterias en el estómago del gusano (Leluk *et al.*, 2017).

Los estudios no solo se han concentrado en el gusano *Tenebrio molitor*, un ejemplo de ello es el estudio de degradación de PS realizado por Peng y colaboradores en el cual además del *Tenebrio* se estudió al gusano negro (*Tenebrio obscurus*). Como resultados, este grupo de investigadores reportó una degradación de 55.4% y 41.5%, de una masa inicial de 7.2 g de PS, para el *T. molitor* y *T. obscurus* respectivamente en un periodo de incubación de 31 días. Además, que consiguieron un aumento en la degradación total de 11.6% para el *T. obscurus* y 15.2% para *T. molitor* al agregar un cosustrato (harina de maíz y salvado de trigo respectivamente a cada gusano). Mientras, que su análisis de comunidad microbiana en los estómagos de ambos gusanos mostro que la actividad de degradación está asociada a tres predominantes familias: *Enterobacteriaceae*, *Spiroplasmataceae* y *Enterococcaceae*. Y por último terminan sugiriendo que la degradación de PS puede ser ubicua en la familia Tenebrionidae (Peng *et al.*, 2019).

Otro ejemplo es el estudio realizado en Taiwán en el 2017 donde aislaron dos bacterias (posibles especies *Alcaligenes* sp. y *Klebsiella* sp.) del *Tenebrio molitor* y *Zophoba morio*; las cuales mostraron poder utilizar al PS como fuente de carbono (Tang *et al.*, 2017).

Así también, se ha buscado el efecto que tiene los microplásticos en este tipo de gusanos, para ello en China tres investigadores realizaron un estudio con *Tenebrios*, de diferentes regiones de ese país, los cuales fueron sometidos a una dieta de tres microplásticos comunes poliestireno, cloruro de polivinilo

(PVC) y polietileno de baja densidad (LDPE). La prueba consistió en alimentar a los gusanos con 7 g de microplásticos (150 μm) durante 28 días. De acuerdo con sus resultados los gusanos pueden ser alimentados por los microplásticos y sobrevivir durante un mes, a pesar de que el alimento no provee la suficiente energía para su crecimiento (Wu *et al.*, 2019).

7. METODOLOGÍA

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental (LIA), Edificio 5 del Instituto de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México. La metodología que se llevó a cabo para el logro de los objetivos se describe en las siguientes fases.

7.1. Revisión documental sobre bolsas compostables en México

La investigación de las bolsas certificadas como compostables que circulan en México, así como el material del que están fabricadas se realizó mediante búsquedas en la red, verificado los sitios web de productores/fabricantes, distribuidores, centros comerciales, entre otros, que pudieran dar información, también fue considerada la visita a mercados, revisión de publicaciones, entre otros medios. De igual forma, se verificaron los números de registro otorgados por la Secretaría de Medio Ambiente de la Ciudad de México (SEDEMA), los cuales acreditan a distintos fabricantes y distribuidores de plásticos compostables una vez que demuestran mediante métodos estandarizados que los plásticos usados en sus productos son biodegradables.

Para poder considerar las bolsas compostables como hallazgo durante la investigación, estas debían contar logotipos de las certificaciones que las acreditan como compostables, así mismo, debían contar con un certificado extendido por las normativas que acreditan, el cual, preferentemente debía ser verificado en el sitio web del fabricante, de igual forma, se consideró la presentación de informes de biodegradabilidad emitidos por un instituto o universidad que acreditaban la biodegradabilidad de la bolsa y en su caso era posible verificar la ficha técnica de la bolsa en cuestión.

7.2. Pruebas de desintegración, biodegradación aeróbica y ecotoxicidad a 3 bolsas compostables de acuerdo con la norma NMX-E-273-NYCE-2019

Las pruebas de desintegración, biodegradación aeróbica y ecotoxicidad fueron realizadas a tres bolsas compostables (WC, EH y EA) las cuales fueron adquiridas por compra en línea, asimismo, se verificó que pudiera adquirirse la ficha técnica de cada una, presentación de logotipos de certificación como compostables y certificado o estudio de biodegradabilidad realizado por alguna institución o universidad. El criterio de selección se basó en el fácil acceso a ellas y que los componentes de estas

son similares en cada una. En la tabla 5 se muestra la composición mostrada en la ficha técnica de cada bolsa seleccionada para las distintas pruebas.

Tabla 5. Composición porcentual mostrada en ficha técnica de las distintas bolsas plásticas compostables seleccionadas

Componente	BOLSA		
	WC	EH	EA
PBAT	50%	50-70%	No mencionado
PLA	15%	5-15%	No mencionado
Fécula de maíz	35%	25-35%	No mencionado

PLA ácido poliláctico, PBAT Polibutilén Adipato-co-Tereftalato.

Las pruebas antes mencionadas se realizaron de acuerdo con las metodologías establecidas por la norma NMX-E-273-NYCE-2019 Industria del plástico – Plásticos compostables – Especificaciones y métodos de prueba, en el punto 10 del documento. La selección de las metodologías se realizó de considerando la facilidad para poder montar los experimentos y la adquisición de ciertos insumos y materiales. A continuación, se describe la metodología que fue utilizada en cada prueba.

7.2.1. Evaluación de la desintegración de las bolsas compostables con metodología estandarizada

La prueba de desintegración fue llevada a cabo siguiendo la metodología establecida por la *norma ISO 20200:2015 Plásticos-Determinación del grado de desintegración de materiales plásticos bajo condiciones simuladas de compostaje en prueba escala laboratorio*.

Para llevar a cabo esta prueba fueron requeridos los siguientes materiales: para la elaboración del residuo sintético fue empleado aserrín, alimento para conejo marca Redkite, composta madura proveniente de la planta de composta de CU, UNAM, almidón de maíz, sacarosa, aceite de maíz y urea en las proporciones que se muestran en la tabla 6, así mismo, fueron empleados 12 contenedores de polipropileno con tapa con las siguientes medidas: 30 cm x 20 cm x 12 cm como el que se muestra en la figura 11 y a los cuales se les realizaron dos perforaciones aproximadamente a 6.5 cm de altura en las caras cortas del contenedor para permitir el intercambio gaseoso.

Tabla 6. Materiales requeridos para la elaboración de 1 kg de residuo sintético

Material	Proporción	Cantidad (g)
Aserrín	40%	400
Alimento para conejo	30%	300
Inóculo de composta madura	10%	100
Maicena	10%	100
Sacarosa	5%	50
Aceite de maíz	4%	40
Urea	1%	10
Total	100%	1000

El residuo sintético fue elaborado mezclando muy bien todos los materiales en las proporciones antes mencionadas y buscando que se obtuvieran partículas de 10 mm aproximadamente o de menor tamaño, en algunos casos se realizó tamizado. Posteriormente se colocó 1 Kg de residuo sintético en cada contenedor de polipropileno y fueron agregados 550 g de agua purificada para lograr obtener un residuo húmedo al 55%, y fue mezclado nuevamente.

Una vez que se obtuvo el residuo húmedo se agregaron 15 g de las bolsas plásticas compostables prueba correspondientes y bolsa plástica de polipropileno como control a cada contenedor (Biorreactor), las cuales previamente fueron cortadas en cuadros de 2.5 cm x 2.5 cm; se mezcló nuevamente cada biorreactor hasta tener una composta con plástico homogénea, se cerraron las tapas de cada biorreactor, y finalmente se colocaron en una incubadora casera manteniendo una temperatura de 58°C (+/-2°C), siendo este el inicio del periodo termofílico que menciona la normatividad. En la tabla 7 se muestra la cantidad de reactores incluyendo las repeticiones requeridas para dar rigor estadístico a la prueba.



Figura 11. Contenedor de polipropileno utilizado para la prueba de desintegración

Tabla 7. Cantidad de biorreactores sometidos a prueba, su contenido de residuo sintético y plástico

Unidad con repeticiones (biorreactores)	Contenido		
	Residuo sintético seco	Plástico prueba	Repeticiones
EH	1 kg	15 g	3
WC	1 kg	15 g	3
EA	1 kg	15 g	3
CT	1 kg	15 g	3

CT control bolsa de polipropileno color negro

Durante el periodo termofílico (incubación a 58°C) se realizaron algunas actividades de mantenimiento del proceso de compostaje durante los 54 días que se mantuvo la prueba, estas actividades fueron principalmente la adición de agua para recuperar la evaporada, y el movimiento/mezclado del residuo sintético de cada biorreactor para evitar que se generara un ambiente anaerobio, dicho mezclado se realizó con una palita de madera logrando con esto un proceso de compostaje aerobio adecuado.

Las actividades de mantenimiento de los biorreactores se llevaron a cabo siguiendo el orden y temporalidad establecida por la normatividad, en la tabla 8 se muestran las actividades y tiempos en que se desarrollaron.

Tabla 8. Actividades y tiempos para el mantenimiento de los biorreactores durante la etapa termofílica

Días	Actividad
0	Registro de la masa inicial de cada reactor
1, 2, 3, 4, 7, 9, 11, 14	Pesaje de cada reactor y agregar agua para recuperar la masa inicial si es necesario. Mezclar/remover la composta con una palita.
8, 10, 16, 18, 21, 23, 25, 28	Pesaje de cada reactor y agregar agua para recuperar la masa inicial, si es necesario. No mezclar/remover la composta.
30, 45	Pesaje de cada reactor y agregar agua para recuperar la masa al 80% de la masa inicial, si es necesario. Mezclar/remover la composta con una palita.
Del día 30 al 54	Realizar dos veces por semana el pesaje de cada reactor y agregar agua para recuperar la masa al 80% de la masa inicial, si es necesario. Mezclar/remover la composta con una palita.

Durante la prueba realizada en el presente trabajo no fue realizada la fase mesofílica que menciona la normatividad debido a que no fue requerido su uso. Durante el desarrollo de la prueba fueron monitoreados algunos indicadores cualitativos de compostaje adecuado siendo estos: el olor (ácido a amoníaco y sin olor), la apariencia visual (color amarillo/café claro a café oscuro o negro), y desarrollo de micelio sobre la materia en descomposición. Todos los indicadores cualitativos fueron observados lo cual mostró que el proceso de compostaje se desarrolló correctamente. En las figuras 12 pueden observarse la evolución de la apariencia visual de los biorreactores.

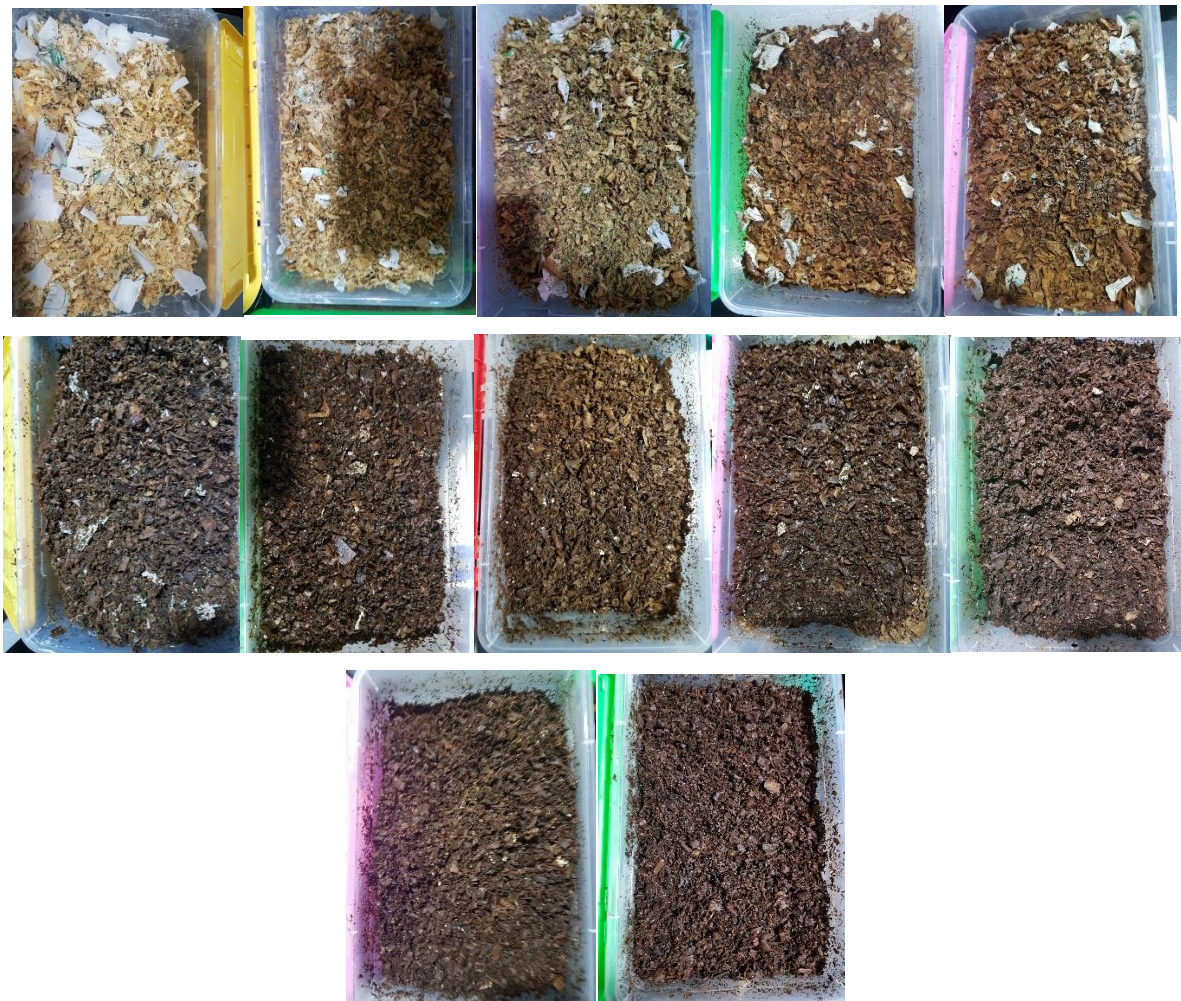


Figura 12. Ejemplo de la evolución de los biorreactores con plástico compostable EH. De arriba hacia abajo e izquierda a derecha días 0, 7, 14, 21, 28, 30, 33, 36, 39, 42, 51 y 54

Una vez transcurridos los 54 días se preparó el término de la prueba abriendo las tapas de todos los biorreactores y manteniéndolos a 58°C para evaporar el agua contenida en ellos. El proceso de secado concluyó una vez que cada biorreactor se observó seco y se mantuvo a peso constante por dos días.

Una vez secos y estando a peso constante los biorreactores, se extrajo la composta de cada uno, y esta fuera cernida con tamices de 5 mm y 2 mm como se puede ver en la figura 13, todo el residuo plástico que no pasó el tamizado fue recuperado. Posteriormente fue lavado con agua destilada para retirar lo más posible los residuos de composta y se secó a 40 °C hasta obtener peso constante. Se realizó el registro del último peso obtenido del plástico de cada repetición. En la figura 14 se muestra en forma de diagrama la metodología previamente descrita.



Figura 13. Cernido de las compostas generadas para la recuperación de plásticos

Finalmente, para obtener el porcentaje de desintegración el material plástico recuperado se considera material no desintegrado, y el material que pasa por los tamices se considera desintegrado. El grado de desintegración o porcentaje de desintegración (D), se calculó usando la ecuación número 1:

$$D = \frac{m_i - m_r}{m_i} * 100$$

Ec. 1

Donde:

m_i es la masa seca inicial del material probado

m_r es la masa seca del material recuperado después de la prueba

Para poder asegurar la validez de los resultados y de un buen proceso de compostaje se realizó una metodología de validación, la cual necesitó de las mediciones de masa seca y sólidos volátiles del residuo sintético generado, y a la composta obtenida después de 54 días de tratamiento termofílico esto último para cada reactor. Las mediciones antes mencionadas fueron necesarias para llevar a cabo la ecuación de porcentaje de decrecimiento de sólidos volátiles (R) del proceso de compostaje ecuación 2 la cual se muestra enseguida:

$$R = \frac{[m_i * (DM)_i * (VS)_i] - [m_f * (DM)_f * (VS)_f]}{[m_i * (DM)_i * (VS)_i]} * 100$$

Ec. 2

Donde:

R es el porcentaje de decrecimiento de sólidos volátiles el cual debe ser igual o mayor a 30%.

m_i es la masa húmeda inicial de residuo sintético colocada en cada reactor.

$(DM)_i$ es la masa seca inicial de residuo sintético expresado como porcentaje y dividido entre 100.

$(VS)_i$ es el contenido de los sólidos volátiles en el residuo sintético, expresado como porcentaje y dividido entre 100.

m_f es la masa final obtenida al final del compostaje (masa de composta húmeda).

(DM)_f es la masa seca final de composta, expresado como porcentaje y dividido entre 100.

(VS)_f es el contenido de los sólidos volátiles en la composta, expresado como porcentaje y dividido entre 100.

Para la obtención de masa seca se tomaron 10 g de muestra del residuo sintético húmedo (al inicio de la prueba realizando 3 repeticiones) y 10 g de composta húmeda (al final de la prueba) de cada biorreactor, se colocaron en cápsulas de porcelana que previamente se mantuvieron en peso constante y se colocaron los 10 g de material, posteriormente se colocaron en una estufa a 105°C y fueron retirados hasta lograr peso constante, todos los materiales fueron pesados en una balanza analítica con precisión de 0.0001 g y se registró el peso de cada cápsula de porcelana a peso constante (sin material), de las capsulas con el material prueba, y las capsula con el material seco a peso constante.

Posteriormente para la obtención de los sólidos volátiles las capsula con el material seco que fue tratado a 105°C se colocaron en una mufla a 550°C durante 8 a 10 horas. Finalmente, se retiraron de la mufla se dejaron enfriar dentro de un desecador, después fueron pesados y se registró su peso. El porcentaje de sólidos volátiles fue obtenido considerando como el 100% la masa seca obtenida previamente durante el proceso de secado en la estufa a 105°C.

De acuerdo con la norma NMX-E-273-NYCE-2019 se considera que un producto plástico ha demostrado desintegración satisfactoriamente, si después de 84 días (12 semanas) en una prueba de composteo controlado, no más del 10 % de su peso seco original se puede recuperar después de colar en un tamiz de 2 mm. Sin embargo, en el presente trabajo la prueba únicamente pudo dejarse durante 54 días debido a que los tiempos debían ajustarse para poder realizar las pruebas de ecotoxicidad con plantas para lo cual es requerida la composta generada en esta etapa, así mismo, la norma ISO 20200 menciona un tiempo mínimo de 45 días para la etapa termofílica, por lo que la presente prueba no quedó fuera de rango.

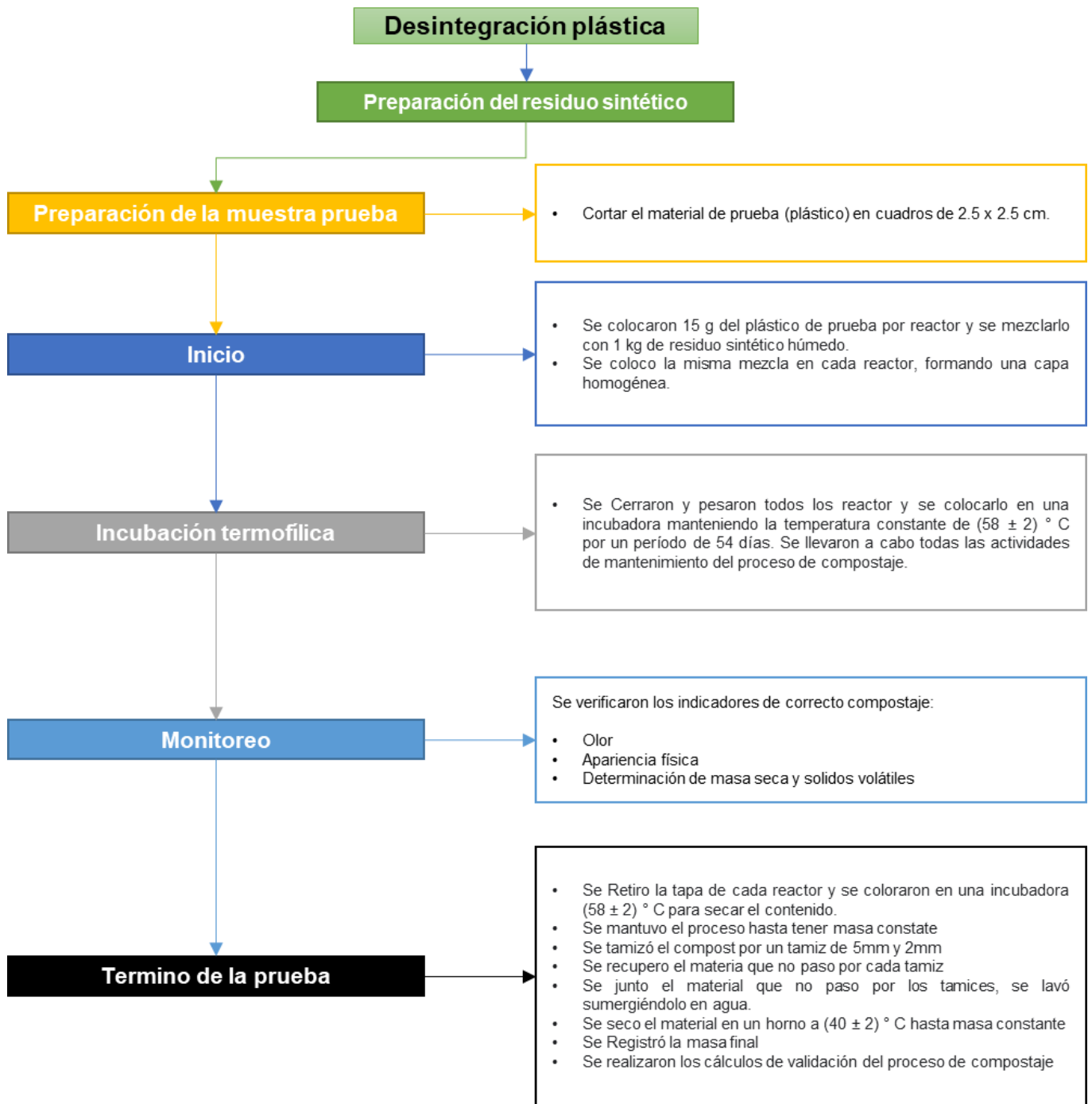


Figura 14. Diagrama que describe la metodología utilizada para determinarla desintegración plástica según ISO 20200:2015

7.2.2. Evaluación de la biodegradación aeróbica mediante metodología estandarizada

El método utilizado para la determinación de la biodegradación aeróbica utilizado fue el establecido en la norma *ISO 14855:2018-2 Determinación de la biodegradabilidad última aeróbica de materiales plásticos bajo condiciones controladas de compostaje – Método por análisis de dióxido de carbono desprendido. Parte 2: Medición gravimétrica de dióxido de carbono desprendido en una prueba a escala laboratorio.*

Para la presente prueba fueron requeridos los siguientes reactivos y materiales: Cal sodada en tamaño de 2 a 4 mm, cloruro de calcio anhidro en tamaño de 2 a 3 mm, hidróxido de sodio en lentejas previamente aplastadas en tamaño aproximado de 2 a 3 mm, sílica gel en esferas de 2 a 4 mm, arena de sílice fina, ácido sulfúrico 1M, naranja de metilo, celulosa microcristalina grado TLC, bolsas plásticas compostables prueba, composta madura casera con abono de conejo de no más de 3 meses y composta comercial.

En cuanto a otros materiales y equipos fueron requeridos 2 flujómetros para aire, 9 columnas de acrílico, matraces Erlenmeyer de 500 mL, 250 mL y 125 mL con tapón de doble orificio, manguera de laboratorio, tubo de cristal, una incubadora casera con termostato y capacidad de 58°C +/- 2°C, termómetro de alcohol con rango de -20 a 150°C, sistema de aire constante, potenciómetro, analizador de carbono módulo de sólidos Shimadzu modelo SSM-5000A, mufla, estufa, cápsulas de porcelana y balanza analítica con sensibilidad de 0.0001 g.

Es importante mencionar que, de acuerdo con la normatividad, esta prueba se desarrolla siguiendo diferentes etapas las cuales se menciona a continuación: preparación del inóculo, preparación de arena de sílice, preparación del material prueba, puesta en marcha de la prueba, y medición y termino de la prueba.

El inóculo de composta fue preparado a partir de una composta casera húmeda y una composta comercial húmeda que previamente fueron tamizadas con un cernidor con tamaño de poro de 3 mm, posteriormente fueron agregadas en un vaso de precipitado de 1 L en proporción 6:4 respectivamente, es decir, 60 g de composta casera y 40 g de composta comercial, posteriormente se añadió el 10% del peso total de agua destilada, es decir, 10 g y se mezcló bien. La norma 14855:2018-2 indica que el

inóculo de composta madura que se pretenda emplear debe contener entre 35 y 55% de masa seca, y el contenido de sólidos volátiles debe ser del 30% o mayor en la masa seca previamente obtenida, así mismo, este debe contar con un pH entre 7 a 9.

El pH del inóculo previamente preparado se midió con un potenciómetro marca OAKTON modelo pH 11, se colocó una parte de inóculo por cinco partes de agua destilada, se mezcló vigorosamente y se dejó reposar por 30 min, posteriormente se realizó la medición. Esta acción se realizó por triplicado.

Para la obtención del valor de masa seca del inóculo que se empleó, se tomaron 10 g del inóculo previamente preparado con la mezcla de compostas, y se colocaron en una cápsula de porcelana que previamente se mantuvo a peso constante, posteriormente se colocó la cápsula en una estufa a 105°C, cada 30 min se realizó el pesaje de la cápsula la cual fue retirada hasta que se registró peso constante, el pesaje de las cápsulas con composta inóculo fue realizado en la balanza analítica con precisión de 0.0001 g.

Posteriormente para la obtención del valor de contenido de sólidos volátiles en la muestra, se colocó en una mufla a 550°C durante 10 horas la cápsula con el inóculo de composta seco antes obtenido. Finalmente, transcurrido el tiempo se retiró de la mufla y se dejó enfriar dentro de un desecador, seguido de esto fue pesado y registrado el peso. El porcentaje de sólidos volátiles fue obtenido considerando como el 100% la masa seca obtenida previamente durante el proceso de secado en la estufa a 105°C. Las pruebas para verificar el contenido de masa seca y sólidos volátiles se realizaron por triplicado.

La preparación de la arena de sílice consistió en realizar un lavado con agua corriente de aproximadamente 3 Kg del material hasta observar que el agua no presentaba turbidez, posteriormente la arena fue lavada con agua destilada 2 veces concluyendo con esto el retiro de sustancias y contaminantes que pudieran contener. Posteriormente la arena de sílice fue colocada en un contenedor de vidrio, y se procedió a introducir este en una estufa a 105°C para realizar el secado. La arena fue retirada una vez que se observó que esta no presentaba grumos y no presentaba signos de humedad.

La preparación del material prueba consistió principalmente en la fragmentación de las bolsas plásticas mediante el uso de un molino para café el cual permitió obtener pequeños trozos de bolsa que oscilaban entre 1-2 mm, y en la determinación del carbono orgánico total (COT) de las bolsas prueba y de la

celulosa microcristalina (control material de referencia), la cual se realizó en el equipo analizador de carbono marca Shimadzu modelo SSM-5000A.

Previo a realizar el análisis de COT se prepararon las cápsulas de alúmina-porcelana con las que opera el equipo analizador de carbono. Esto se realizó lavando muy bien cada cápsula para retirar materia orgánica que pudiera estar incrustada, y posteriormente se enjuagaron con suficiente agua destilada. Finalmente, se introdujeron en una mufla a una temperatura de 900°C durante 30 minutos, y a partir de aquí fueron manipuladas con pinzas.

El análisis de todas las muestras se realizó siguiendo las instrucciones de operación del equipo. Fueron realizadas dos curvas de calibración, una para el carbono total (CT) y otra para el carbono inorgánico (CI) utilizando sacarosa y carbonato de sodio respectivamente, las curvas se realizaron pesando e introduciendo al equipo 10, 20 y 30 mg de cada reactivo.

Para la determinación del COT de las bolsas compostables y de la celulosa microcristalina se pesaron e introdujeron al equipo 50 mg de cada material para la obtención del carbono total (CT) y 50 mg de cada material para la obtención del carbono inorgánico (CI). Es importante mencionar que el Carbono orgánico total (COT) se obtiene de la resta de CT-CI.

La puesta en marcha de la prueba se inició una vez que se concluyó el armado del sistema de biorreactores, humidificadores, deshumidificadores y columnas trampa. En la figura 15 se muestra un ejemplo del orden en que fue colocado cada elemento, y en la figura 16 y 17 se muestra imágenes del montaje real.

Dentro de los distintos contenedores que forman parte del sistema se introdujeron las siguientes cantidades de reactivos: 100 g de cal sodada en la primera columna trampa de CO₂, 150 mL de agua destilada en el humidificador, 150 mL de H₂SO₄ en la trampa de amonio, 100 g de sílica gel en la columna deshumidificadora, 75 g de CaCl₂ y 80 g de mezcla 1:1 de hidróxido de sodio y cal sodada en la trampa de CO₂ de salida.

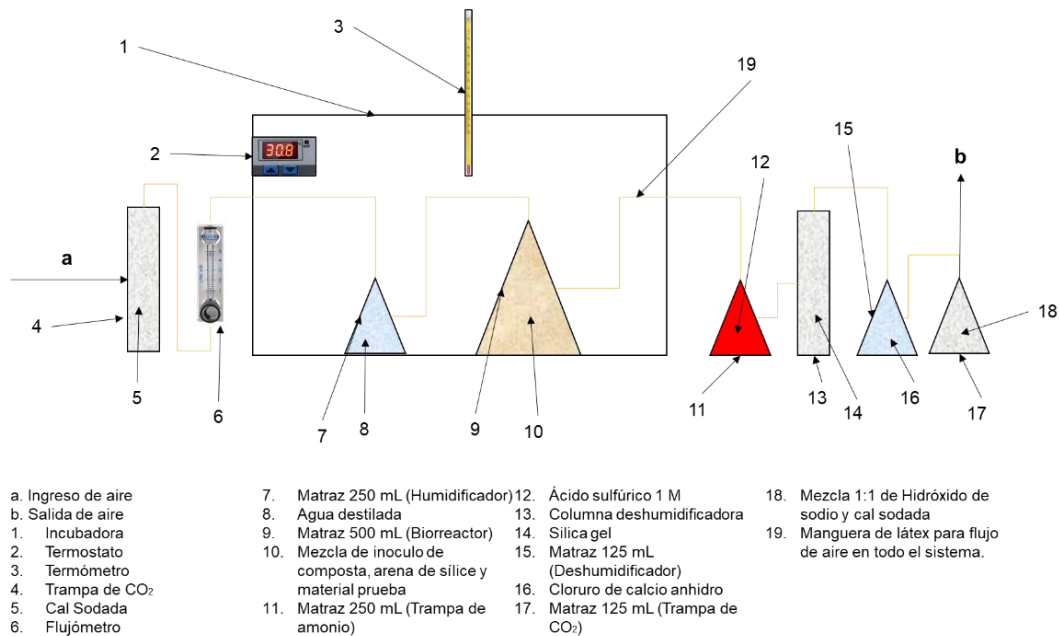


Figura 15. Diagrama del sistema de trampas, biorreactor, humidificador y deshumidificador utilizado

Fuente: ISO 14855:2018-2. Determinación de la biodegradabilidad última aeróbica de materiales plásticos bajo condiciones controladas de compostaje – Método por análisis de dióxido de carbono desprendido. Parte 2: Medición gravimétrica de dióxido de carbono desprendido en una prueba a escala laboratorio



Figura 16. Imagen completa del sistema real montado para llevar a cabo la prueba de biodegradación por el método de análisis de dióxido de carbono desprendido



Figura 17. Imagen del sistema real una vez montado, a la izquierda se observa la conexión de aire con la trampa de CO₂ de ingreso, un flujómetro y llaves de paso para regular el flujo de aire, en el centro se puede observar la incubadora, y a la derecha se observan las trampas de amonio los deshumidificadores y la trampa de CO₂ final

El material para cada biorreactor se preparó siguiendo las indicaciones de la norma ISO 14855:2018-2, fue utilizando 1/3 de las cantidades mencionadas por dicha norma como “caso típico”, en seguida se indican las cantidades utilizadas: inóculo de composta fueron agregados 43.15 g (20 g de sólidos secos), 4.819 g de agua destilada para llevar al 65% de humedad y se dejó reposar durante 24 horas. Posteriormente se agregaron 106 g de arena de sílice con 15% de humedad (preparada previamente con agua destilada), 3.3 g de bioplástica prueba y 3.3 g de celulosa microcristalina para el control, de igual forma, fue preparado un biorreactor blanco el cual consto únicamente de inóculo de compost y arena de sílice. Finalmente, se ajustó a 90% de humedad agregando 4.3 g de agua destilada y se pesó la masa final. En la figura 18 se observa la preparación de los biorreactores.

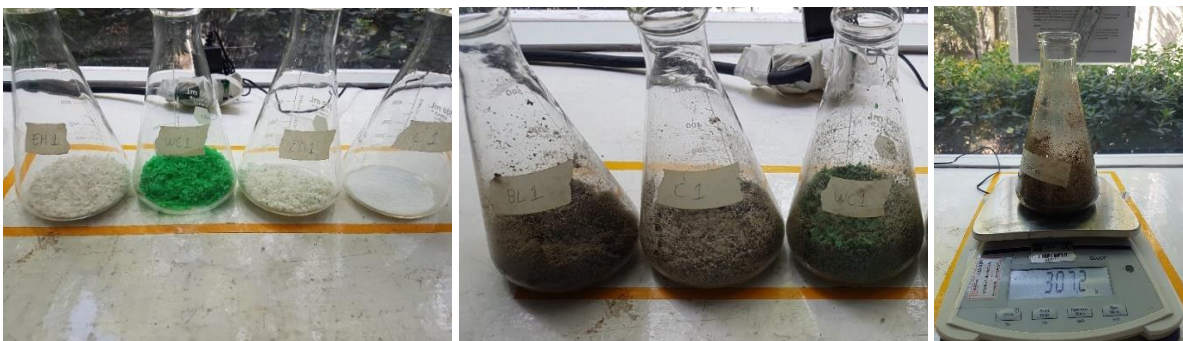


Figura 18. Fotografías de los biorreactores durante su preparación, a la izquierda se observa el material plástico usado y la celulosa, en medio los biorreactores con inóculo y arena de sílice, y a la derecha el pesaje de un biorreactor con todos los materiales

Una vez que fueron preparados y pesados los biorreactores, se introdujeron en la incubadora, se realizó la conexión de estos con el flujo de aire el cual fue ajustado aproximadamente entre 10 mL/min y 30 mL/min, se cerró la incubadora, y se ajustó la temperatura a 58°C +/- 2°C, la temperatura fue corroborada con el termómetro. En la figura 19 se observa un ejemplo del interior de la incubadora con los biorreactores conectados.



Figura 19. Fotografía izquierda, interior de la incubadora con los biorreactores conectados a la fuente de aire y a la derecha termómetro mostrando una temperatura de 59°C dentro de la incubadora

La medición de la cantidad de CO₂ generada por la actividad de los biorreactores se realizó por diferencia de pesos (gravimetría) como indica la normatividad. Cada trampa de CO₂ de salida (número 17 de la figura 16) fue desconectada del sistema de aire y llevada a pesar en la balanza analítica. La desconexión de las trampas de CO₂ se llevó a cabo con el mayor cuidado posible, evitando que aire exterior ingresara, esto se logró colocando pinzas (sujeta documentos) en las mangueras de entra y salida del matraz como se puede ver en la figura 20.



Figura 20. Fotografía de una trampa de CO₂ lista para realizar el pesaje

Las mediciones se realizaron diariamente hasta que ya no se observó aumento de peso, después de este indicador la medición se realizó cada dos días (un día sí y un día no) hasta cumplir 43 días, es importante mencionar que para este tiempo ya no eran visibles residuos de las bolsas compostables. Como actividades de mantenimiento de los biorreactores cada 7 días se agitaron para evitar condiciones anaerobias y desapelmazar el contenido, también se agregó agua destilada si era necesario, así mismo se registraron observaciones tales como: disminución del material prueba, crecimiento de microorganismos (hongos) y, estabilidad de la temperatura de la incubadora.

Una vez transcurrido el tiempo, se concluyó la prueba y finalmente se realizó el pesaje de los biorreactores. Se realizó por triplicado la prueba colocando en una primera fase 2 biorreactores por material prueba, 2 biorreactores control y 2 biorreactores blancos, y en la segunda fase se colocó 1 biorreactor por material prueba, 1 biorreactor control y 1 biorreactor blanco. En la figura 21 se muestra un diagrama de flujo que muestra de forma resumida la metodología antes mencionada.

De acuerdo con la norma NMX-E-273-NYCE-2019 se considera que un producto plástico demuestra una tasa y nivel de biodegradación satisfactorio, si alcanza la relación de conversión a dióxido de carbono (Dióxido de carbono CO_2 /Cantidad teórica de dióxido de carbono producido $ThCO_2$) que se menciona en seguida: Para todos los polímeros, el 90 % del carbono orgánico (en relación con la celulosa microcristalina que es usada como control) debe ser convertido en dióxido de carbono al final del período de prueba siendo este de máximo de 180 días. El control y la muestra de prueba deben estar en composteo por el mismo período de tiempo y los resultados deben ser comparados en el mismo lapso, después que la actividad de ambas se ha estabilizado. Como alternativa el 90% del carbono orgánico (en términos absolutos, o para cada componente orgánico, presente en una concentración mayor a 1 % en masa seca) debe ser convertido en dióxido de carbono al final del período de prueba.

El cálculo de % de biodegradación se realizó de acuerdo con las ecuaciones 3 y 4 las cuales se muestran en seguida: La cantidad teórica de dióxido de carbono ($ThCO_2$) desprendido por el material de prueba se obtiene mediante la ecuación 3:

$$ThCO_2 = m * wc * \frac{44}{12}$$

Ec. 3

Donde:

m es la masa del material prueba colocada en el recipiente al inicio de la prueba (g)

wc es el carbono contenido en el material de prueba, determinado a partir de la formula química o del análisis elemental, expresado como fracción masa.

Los números 44 y 12 presentados en la ecuación 3 son las masas moleculares del dióxido de carbono y carbono, respectivamente. Debe calcularse de la misma forma la cantidad teórica de dióxido de carbono desprendido por el material de referencia.

El porcentaje de biodegradación (D_t) para cada biorreactor prueba (V_t) a partir del dióxido de carbono atrapado durante cada intervalo de medición se obtuvo mediante la ecuación 4:

$$D_t = \frac{\Sigma(CO_2)_T^t - \Sigma(CO_2)_B^t}{ThCO_2} * 100$$

Ec. 4

Donde:

$\Sigma(CO_2)_T^t$ es la cantidad de acumulada de dióxido de carbono en gramos, emitida por el biorreactor prueba (V_t) entre el inicio de la prueba y el tiempo t,

$\Sigma(CO_2)_B^t$ es la cantidad acumulada media de dióxido de carbono, en gramos, emitida en los recipientes en blanco (V_b) entre el comienzo de la prueba y el tiempo t,

$ThCO_2$ es la cantidad teórica de dióxido de carbono, en gramos, desprendida por el material prueba.

Finalmente, de acuerdo con la norma para considerar válidos los resultados obtenidos en esta prueba es necesario que se consideren las siguientes condiciones: 1. El material de referencia (celulosa microcristalina) se biodegrada al 70% o más después de 45 días. 2. La diferencia entre el porcentaje de biodegradación del material de referencia en los diferentes envases es menor del 20% al final de la prueba. 3. El inóculo en el contenedor blanco produce entre 50 y 150 mg de CO_2 por gramo de sólidos volátiles (valor promedio) después de 10 días de incubación.

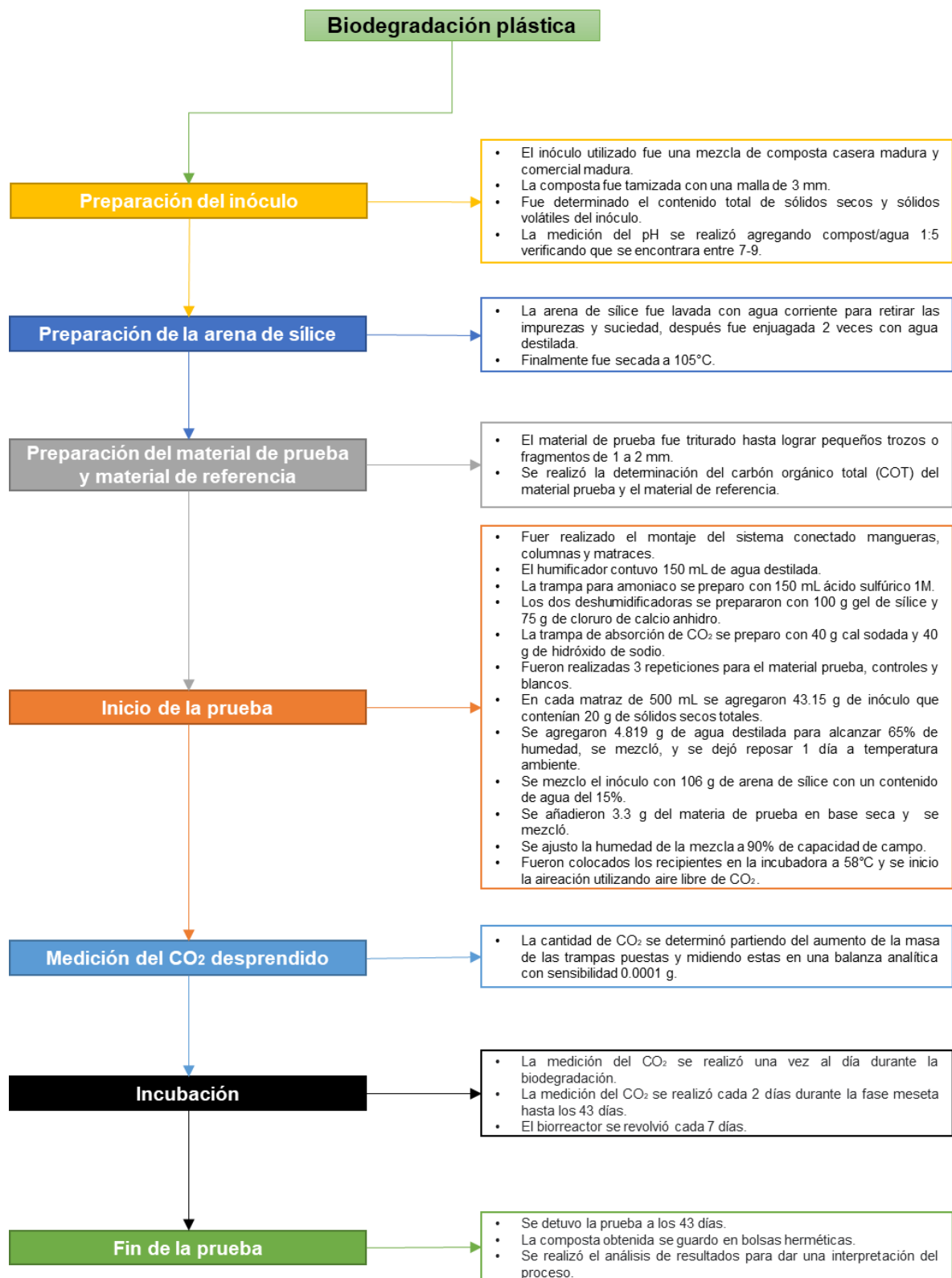


Figura 21. Diagrama que describe el método empleado para determinar biodegradación aerobia

7.2.3. Evaluación de ecotoxicidad de bolsas compostables mediante metodología estandarizada

La ecotoxicidad de los plásticos compostables seleccionados fue evaluada con pruebas de fitotoxicidad que consideraron el porcentaje de germinación, desarrollo y sobrevivencia de plantas las cuales fueron cultivadas sobre la composta generada a partir del punto 7.2.1 y comparadas con un grupo control. Para esta prueba fue utilizada la metodología establecida en la norma *NMX-E-273-NYCE-2019* la cual está basada en la prueba *OCDE 208 Prueba con plantas terrestres: Prueba de germinación y crecimiento de plántulas*, para lo cual, se utilizaron semillas de las siguientes especies vegetales: cebada de verano (*Hordeum vulgare*) y pasto común (*Cynodon dactylon*).

Las semillas de las especies antes mencionadas contaron con un análisis de viabilidad el cual es requerido por la normativa. La prueba de viabilidad de semillas fue realizada previo a ser empleadas en la prueba de fitotoxicidad. Para la prueba de viabilidad fueron requeridas cajas Petri de 100 mm de diámetro, algodón, papel filtro, pinzas, pipeta de 5 mL o 10 mL, película plástica tipo egapack y una incubadora.

Fueron colocadas cinco cajas de Petri con 20 semillas por cada especie, a cada caja de Petri le fue colocada una ligera cama de algodón sobre la cual se colocaron las semillas en 4 filas con 5 semillas, seguido de esto se agregaron 5 mL de agua destilada y se colocó sobre las semillas un círculo de papel filtro. Finalmente, se cerraron las cajas Petri, se selló cada caja con la película plástica y se colocaron en la incubadora a 25 °C. En la figura 22 se muestra un ejemplo de la realización de esta prueba.

Después de 96 horas de incubación, las cajas Petri fueron abiertas y se realizó el conteo de semillas germinadas para obtener el porcentaje de germinación. De acuerdo con la normatividad el porcentaje de germinación debe ser mayor al 70%. En la figura 23 se muestra un diagrama donde se resumen la metodología antes descrita.

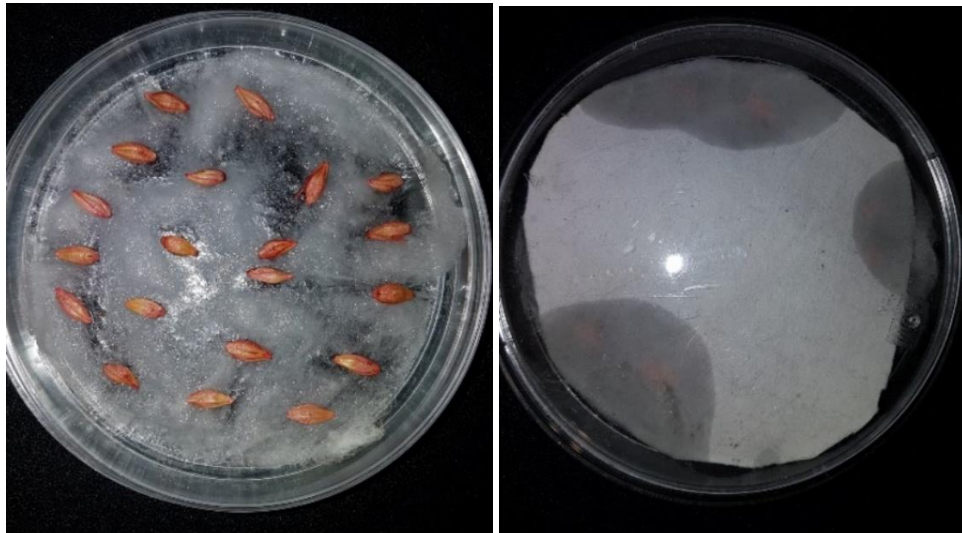


Figura 22. Cajas de Petri con semillas de *Hordeum vulgare* en la prueba de viabilidad de semillas

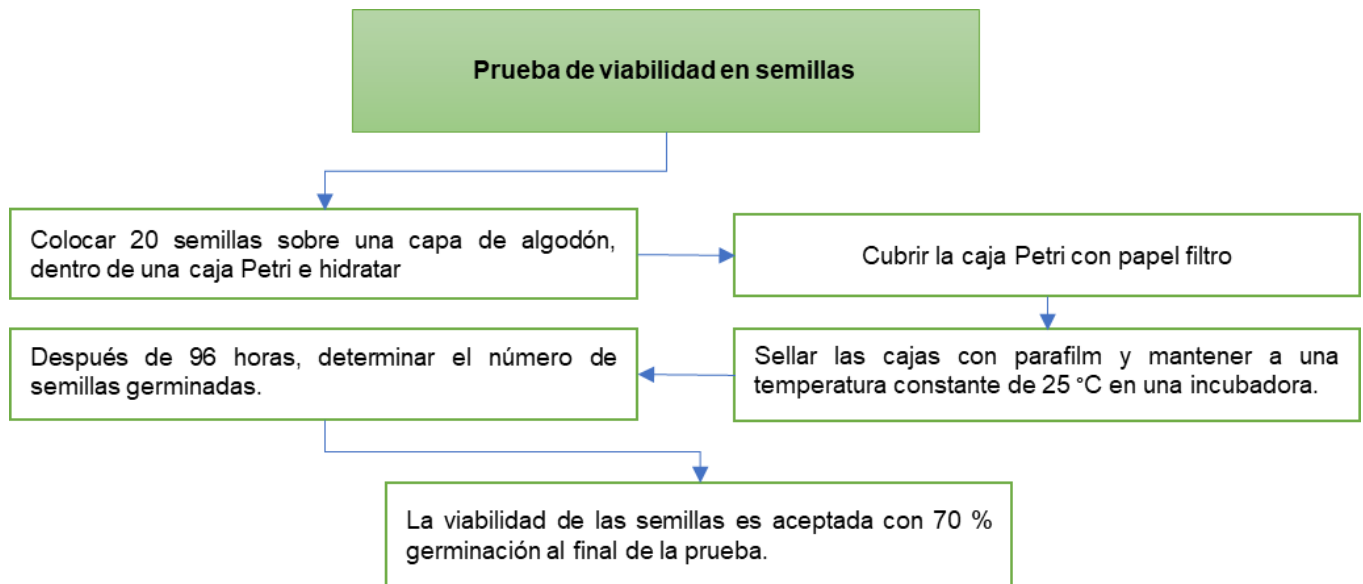


Figura 23. Diagrama que describe la metodología para evaluar la viabilidad de las semillas

Una vez que fue realizada la prueba de viabilidad y se verificó que el lote de semillas probado mostró una germinación mayor al 70%, se procedió a realizar la prueba de fitotoxicidad. Para esta fueron requeridos vasos transparentes de polipropileno con capacidad de 296 mL, la composta con plástico previamente generada, composta generada libre de plástico, arena de sílice, celulosa microcristalina como control, las semillas de las especies vegetales, un termómetro higrómetro, una balanza con sensibilidad 0.01 g y una incubadora casera para cultivo de vegetales en interior.

En cada vaso fueron colocados 25 g de composta con plástico y 25 g de arena de sílice, para la prueba con cebada fueron colocadas 3 semillas por vaso, y para la prueba con pasto se colocaron 0.5 g de semillas. Así mismo, se colocaron dos grupos control, uno al que se le agregó únicamente 25 g de composta sin plástico (control negativo) y 25 g de arena de sílice, y al otro le fueron agregados 25 g de composta sin plástico, 25 g de arena de sílice y 2 g de celulosa microcristalina la cual fue bien mezclada (control positivo), y se les colocaron la misma cantidad de semillas a cada grupo control. Posteriormente se agregaron 35 g de agua destilada con un aspersor, y se colocaron en una incubadora para cultivo en interiores, la cual conto con 4 focos de led para cultivo en interior de 50 W con espectro de 400 a 500 nm y de 650 a 700 nm, y dos lámparas led tipo tubo de 20 W con espectro completo (luz blanca).

La cantidad de vasos/macetas colocadas en la prueba según el plástico probado se muestra en la tabla 9, y en la figura 24 se muestran un ejemplo de las macetas usadas para la prueba, el pesaje de semillas y la incubadora invernadero que fue utilizada.

Tabla 9. cantidad de macetas y semillas colocadas en la prueba de fitotoxicidad

Muestra	Semillas de cebada (<i>Hordeum vulgare</i>)	Semillas de pasto (<i>Cynodon dactylon</i>)	Repeticiones
EH	3	0.5 g	3
WC	3	0.5 g	3
EA	3	0.5 g	3
CT+	3	0.5 g	3
CT-	3	0.5 g	3

EH composta, WC composta, EA composta, CT+ composta con celulosa microcristalina, CT- composta pura.

Una vez preparadas las macetas con las semillas se colocaron dentro de la incubadora en 3 filas con 5 macetas (por cada especie), la incubadora se mantuvo a 22°C (+/- 5°C) y con un contenido de humedad del 70% (+/-20%) y el fotoperiodo se ajustó con un temporizador a 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad.



Figura 24. Fotografías de inicio de la prueba de fitotoxicidad a la derecha vaso usado como maceta, al centro pesaje de semillas de pasto, y a la izquierda incubadora/invernadero para cultivo en interior

La prueba tuvo una duración de 21 días posteriores al momento en que germinó el 50 % de las semillas en los grupos controles. Transcurridos 7 días después de la germinación de las semillas en los grupos control se realizó el conteo de todas las semillas germinadas en cada unidad experimental, esto fue realizado únicamente para la cebada. El regado de las macetas se realizó agregando 20 ml de agua purificada cada 3 días, y cada 7 días hasta cumplir los 21 días se verificó el estado de las plantas registrando cualquier situación anormal. En la figura 25 se muestra un ejemplo del desarrollo de las plantas.

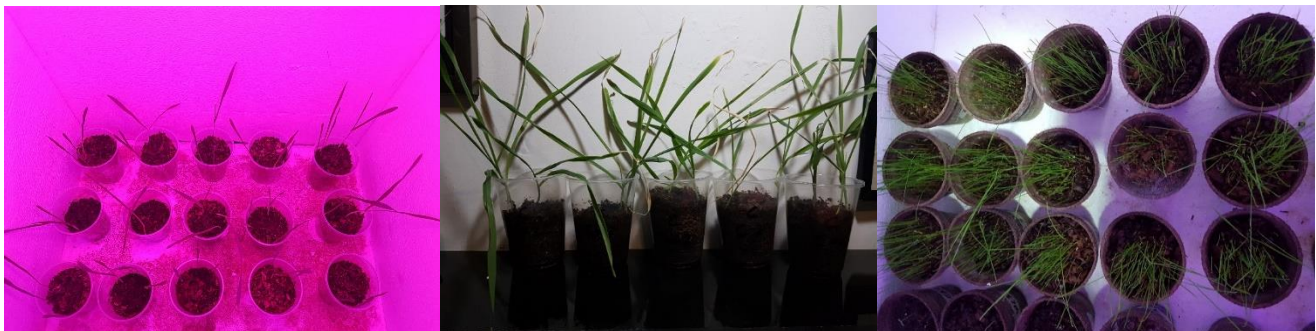


Figura 25. Fotografías del desarrollo de las plantas en cultivo interior, a la izquierda y centro Hordeum vulgare a 7 y 21 días de germinación respectivamente, a la izquierda Cynodon dactylon a 7 días de germinación

Transcurridos los 21 días, las plantas fueron retiradas de la incubadora y fueron procesadas de la siguiente forma: se extrajeron con cuidado de los vasos para no dañar las raíces, una vez fuera de las macetas, las raíces fueron limpiadas con un poco de agua para eliminar partículas del suelo y

finalmente fueron secadas con toallas de papel. Posteriormente se realizó la medición de la altura de las plantas y la longitud de la raíz con un flexómetro y/o un vernier según las dimensiones, y seguido de esto, fueron pesadas para evaluar la biomasa húmeda. Finalmente, una vez realizadas las mediciones antes descritas, las plantas se colocaron en un horno a 70°C durante 24 h para desecarlas, transcurrido el tiempo fueron pesadas para evaluar la biomasa seca. En la figura 26, se muestran algunas imágenes del proceso, y en la figura 27 se muestra un diagrama en donde se resume la metodología antes descrita.



Figura 26. Fotografías del proceso de extracción procesamiento de las plantas, arriba de izquierda a derecha: 1 y 2) limpieza y secado de raíces, 3 y 4) medición de altura máxima, abajo de izquierda a derecha: 1) Colocación de pasto en charolas para secado en horno, 2) pasto seco después de 24 h en el horno y 3) pesaje de biomasa seca

De acuerdo con la norma NMX-E-273-NYCE-2019 no debe existir una diferencia mayor al 10% entre las compostas con plástico y los grupos control para que pueda considerarse que no existió un efecto

fitotóxico por parte de los plásticos. El análisis de los resultados se realizó con una prueba de ANOVA y una prueba de rangos múltiples (LSD).

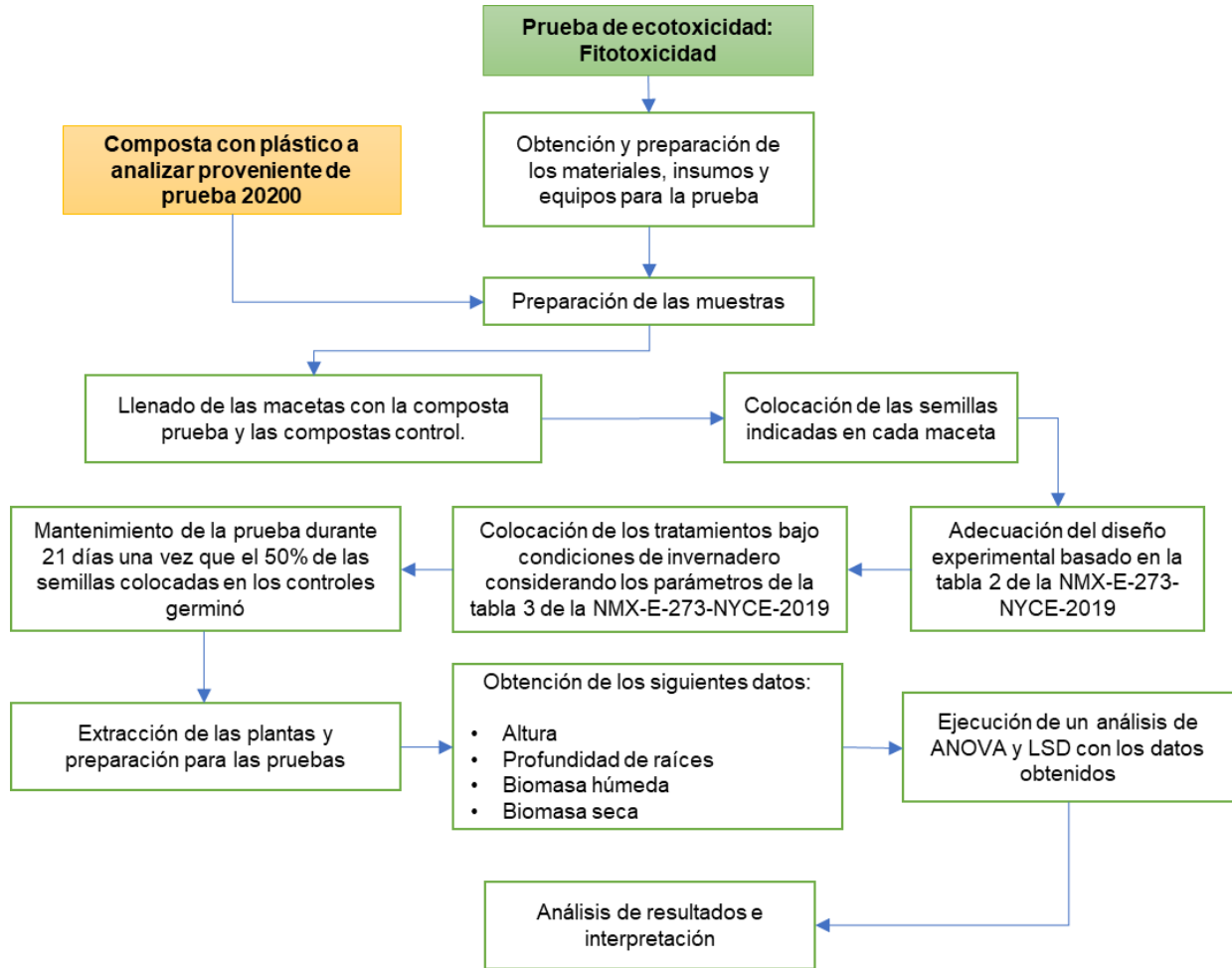


Figura 27. Diagrama que describe metodología usada para la evaluación de ecotoxicidad en plantas

7.3. Análisis de composición química de bolsas

El análisis de la composición química de las bolsas certificadas como compostables se realizó mediante las técnicas de espectroscopia de infrarrojo para los polímeros y espectrometría de masas por plasma inducido (ICP-OES) para los metales.

7.3.1. Análisis de polímeros mediante espectrometría de Infrarrojo (IR-ATR)

El análisis de espectroscopia de infrarrojo fue realizado con el espectrómetro infrarrojo marca Thermo Scientific modelo NICOLET 6700 FT-IR, utilizando la técnica de reflectancia totalmente atenuada (ATR) para la cual se utiliza el accesorio ATR. El equipo fue operado según el instructivo de operación del equipo.

La obtención de los espectros de infrarrojo de cada bolsa compostable consistió en colocar un pequeño cuadro de 1 cm x 1 cm aproximadamente sobre el cristal de diamante, ajustar el tornillo y proceder a la lectura del espectro. La lectura del espectro infrarrojo de cada bolsa compostable se realizó 10 veces para asegurar que los picos de transmitancia/absorbancia obtenidos fueran conformes. En la figura 28 se muestra de forma breve la metodología utilizada para la obtención de los espectros infrarrojo.

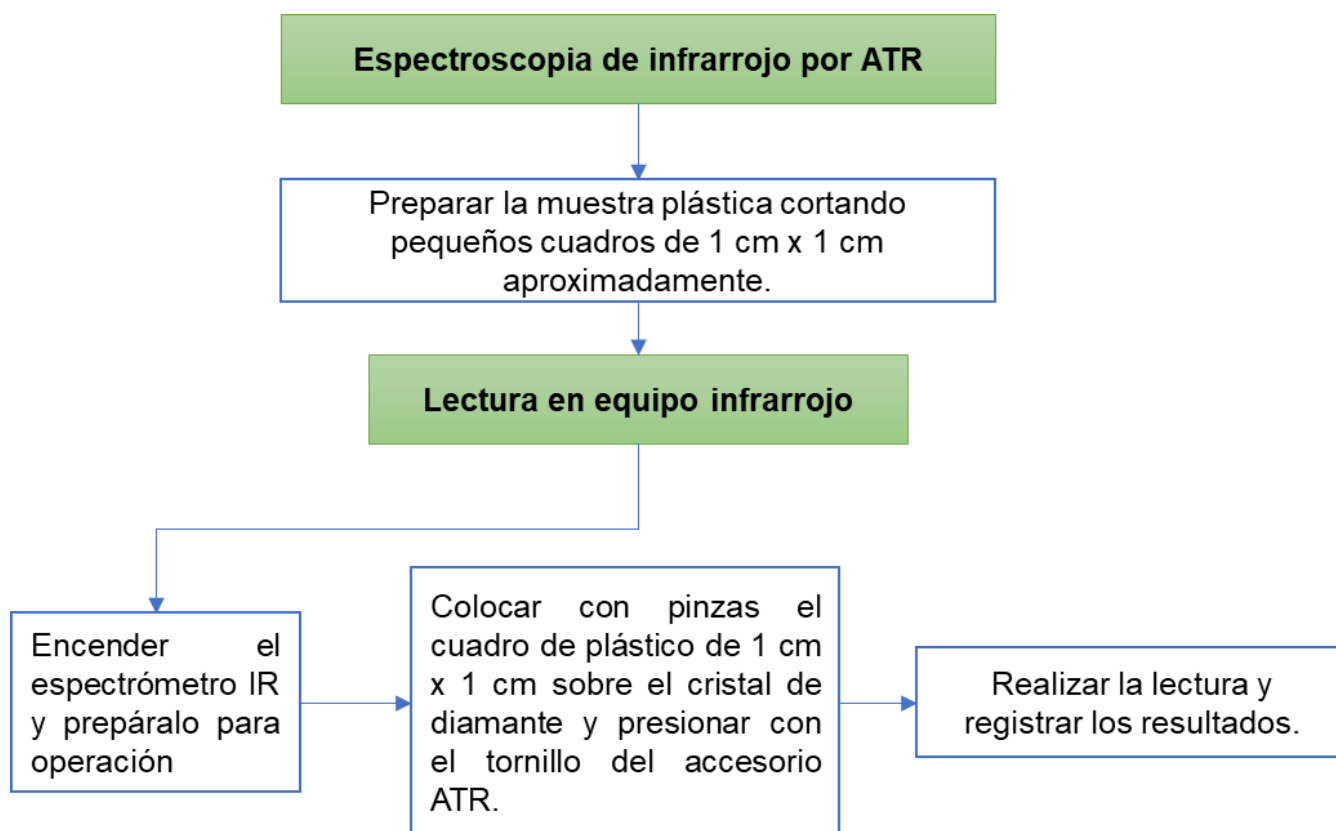


Figura 28. Diagrama que describe la metodología que utilizada para el análisis de la composición química de las bolsas por espectrometría infrarrojo

7.3.2. Análisis de metales mediante espectrometría de masas (ICP-OES)

El análisis de contenido de metales en las bolsas compostables se realizó en el laboratorio de biogeoquímica ambiental del Instituto de Geografía, para este análisis fue utilizado un horno de microondas Milestone, modelo Ethos Easy, con una potencia de 1800 kW y rotor PRO-2, y un Espectrómetro óptico de emisión atómica acoplado a un plasma de inducción ICP-OES marca Agilent Technologies 5100.

Para poder realizar las lecturas de metales previamente fue realizada una digestión de las bolsas plásticas compostables. Para llevar a cabo la digestión fueron empleados los siguientes reactivos y materiales: muestras de bolsa plástica compostable en pedazos de 1 a 3 mm, peróxido de hidrógeno al 30%, ácido nítrico al 70%, agua ácida (ácido nítrico al 2%), papel filtro, embudos, matraz aforado de 50 mL y tubos de teflón para digestión.

Fueron pesados 0.500 g de cada bolsa compostable en una balanza analítica, posteriormente fueron colocados dentro de los tubos de teflón y se agregaron 2 mL de peróxido de hidrogeno y 6 mL de ácido nítrico al 70%, así mismo, fue preparado un tubo blanco al que solo se le agregaron los reactivos sin muestra plástica, y un tubo con los reactivos y una solución estándar de metales como control. Los tubos de teflón fueron cerraron y ajustados de forma segura con los dispositivos para alta presión, y finalmente se introdujeron al horno de microondas.

El horno de microondas fue programado a un ciclo de 20 min para alcanzar la temperatura de 200°C y 15 min para mantener la temperatura de 200°C, una vez concluido el ciclo se esperó a que la temperatura descendiera hasta temperatura ambiente.

Una vez que la temperatura de los tubos llegó a temperatura ambiente que se extrajeron los tubos del horno de microondas, se retiraron con cuidado los dispositivos de seguridad para alta presión, y fueron colocados de acuerdo con su numeración en una gradilla de madera. Posteriormente se extrajo el contenido (plástico digerido) vertiendo este en un embudo con papel filtro acoplado a un matraz aforado de 50 mL, después los tubos de teflón fueron lavados con un poco de agua ácida y el lavado fue vaciado al matraz aforado. Una vez que todo el líquido generado en la digestión se contuvo en los matraces, se realizó un pequeño lavado del papel filtro y embudo con agua ácida (el lavado igual se recolecto en los matraces), se realizó el aforado de cada matraz a 50 mL con agua acida, se colocó el tapón del matraz

y se mezcló el contenido para homogenizarlo. Finalmente, se vaciaron los 50 mL de los matraces aforados a frascos plásticos con etiqueta de la muestra a la que correspondían y se mantuvieron hasta su lectura en el espectrómetro ICP-OES. La digestión de cada plástico prueba se realizó por triplicado.

La lectura de metales contenidos en la digestión realizada fue llevada a cabo por el técnico del laboratorio encargado de la operación del espectrómetro ICP-OES, esta actividad consistió en inyectar la muestra y realizar el registro de los resultados. Para la lectura fue necesaria la elaboración de una curva de calibración a partir de una solución estándar con concentraciones de 0.01, 0.05, 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 y 10 mg/L. Los metales evaluados en las bolsas plásticas prueba fueron los siguientes: arsénico, cadmio, cobalto, cobre, cromo, molibdeno, níquel, plomo, selenio y zinc.

De acuerdo con la norma NMX-E-273-NYCE-2019 los metales en la composta con plástico no deben exceder el 50 % de los límites establecidos por la norma oficial mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002. Protección ambiental. - lodos y biosólidos. -especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final, sin embargo, en el presente estudio se realizó la medición de metales directamente en las bolsas compostables para tener mayor certeza de la cantidad que podrían aportar a una composta, esta decisión se debió a que el residuo sintético con el que se realizó el proceso de compostaje ya contiene una cantidad de metales (Aserrín y comida de conejo principalmente) por lo cual sería muy complicado determinar cuáles son atribuibles a los plásticos. En la figura 29 se muestran algunas fotografías del proceso de digestión de los plásticos, y en la figura 30 se muestra el diagrama que describen brevemente la metodología llevada a cabo.



Figura 29. Fotografías del proceso de digestión de los plásticos seleccionados, de izquierda a derecha, horno de microondas, dispositivos para alta presión, tubos de teflón antes de verter el contenido, y matraz aforado de 50 mL con la digestión después de la filtración

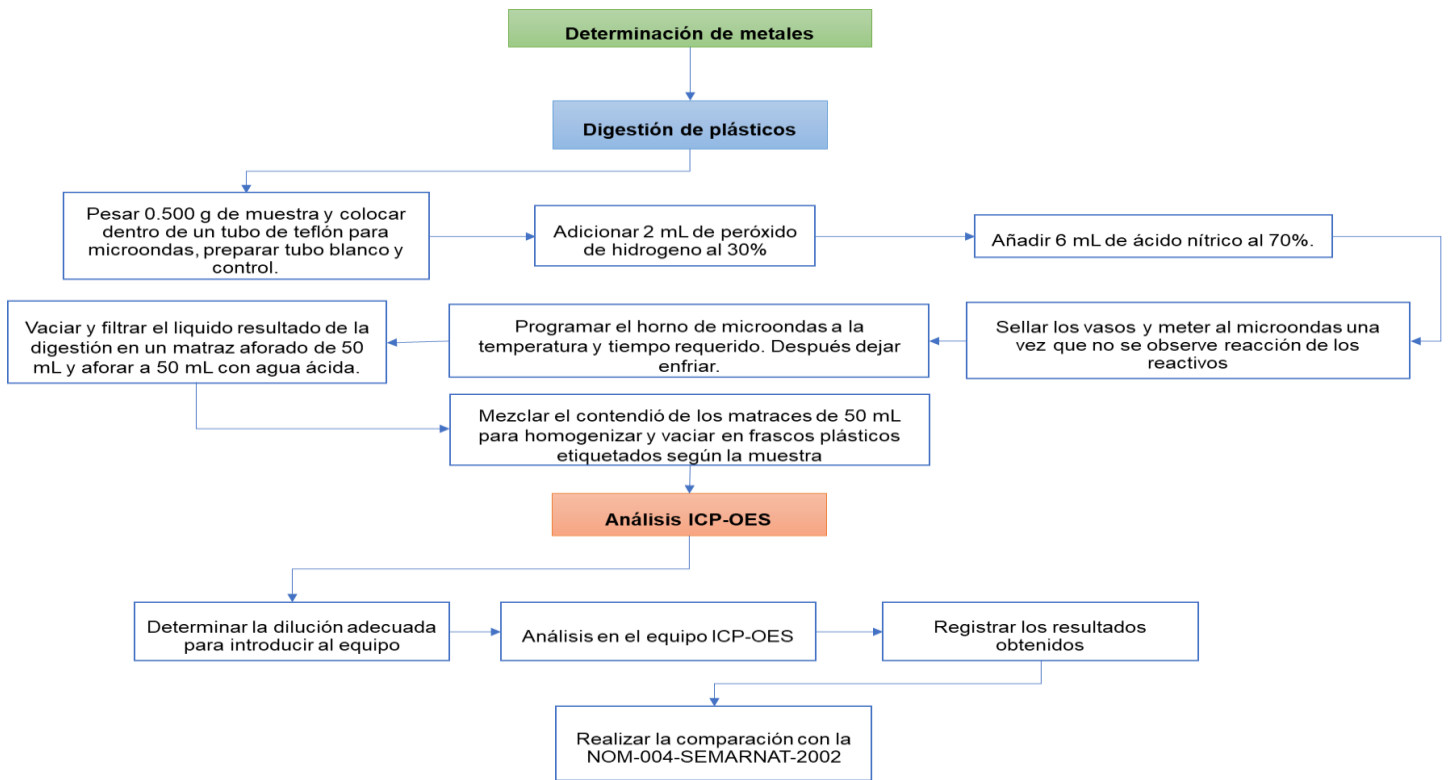


Figura 30. Diagrama que describe la metodología utilizada para la determinación de metales en las bolsas por espectrometría ICP-OES

7.4. Pruebas de consumo, biodegradación y ecotoxicidad empleando larvas de *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio*

7.4.1. Establecimiento, mantenimiento y preparación de las unidades experimentales de las larvas de *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio* en condiciones de laboratorio

Las larvas de *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio* fueron adquiridas en establecimientos dedicados a su reproducción para posterior venta al público. Fueron adquiridas tres semanas antes de la realización de la prueba, y se mantuvieron en un cuarto con los requerimientos mínimos para poder llevar a cabo las pruebas. Para *Tenebrio molitor* se buscó emplear preferentemente larvas del tercer estadio y para la especie *Zophobas morio* larvas del cuarto estadio.

Fueron mantenidas en peceras de 20 L de capacidad como se muestra en la figura 31, fueron separadas por especie y se colocó como sustrato y alimento salvado de trigo. Como fuente de agua se agregaron pequeños trozos de zanahoria. Las condiciones de temperatura y humedad ambiental oscilaron entre 24.5 y 26.5°C, y 45 y 55% respectivamente. Dichos parámetros fueron medidos con un termómetro/higrómetro digital de máximas y mínimas marca Thermopro modelo TP55. La medición de temperatura y humedad fue registrada durante el periodo de establecimiento y durante todo el experimento. Todos los contenedores con larvas fueron mantenidos en condiciones de baja iluminación.



*Figura 31. Ejemplo de la pecera en la que fueron mantenidas las larvas de *T. molitor* y *Z. morio* antes de iniciar la prueba*

Una vez llegada la preparación de las unidades experimentales, fueron separadas y colocadas en contenedores de polipropileno transparente de 500 mL, se colocaron 30 larvas de *Z. morio* por contenedor para la prueba con esta especie, y 80 larvas de *T. molitor* por contenedor para la prueba con esta otra especie. Las larvas fueron pesadas en conjunto antes de ser colocadas en el contenedor para el experimento. Los tratamientos fueron clasificados según la marca de la bolsa plástica con las que fueron alimentadas y mantenidas en condiciones ambientales las cuales oscilaron entre 24.5 y 26.5°C, y 45 y 55% de humedad. Las bolsas seleccionadas fueron de las mismas 3 marcas que previamente se mencionaron en el punto 7.2. (EH, WC y EA). En la tabla 10 se muestra la cantidad y acomodo de repeticiones que fueron realizadas, y en la figura 32 se muestra los contenedores con plástico compostable y los organismos. Fueron realizadas 4 repeticiones por bolsa seleccionada y se mantuvo

un grupo control (CT) con las mismas repeticiones. El grupo control fue alimentado con 10 g de salvado de trigo para ambas especies.

Las bolsas plásticas compostables seleccionadas fueron agregadas en pequeños cuadros de aproximadamente 1 cm², y se agregaron 5 g de cada bolsa en cada contenedor con *Z. morio* y *T. molitor*. La fuente agua para las larvas se suministró mediante cortes de zanahoria. Dichos cortes con peso de 1 g fueron agregados semanalmente. De forma general en la tabla 11 se muestra los datos que fueron registrados durante el experimento para cada especie con los cuales se llevaron a cabo las evaluaciones de consumo, ganancia o pérdida de biomasa y ecotoxicidad.

Tabla 10. Tratamientos establecidos durante la prueba usando *T. molitor* y *Z. morio*

Tratamientos			
Bolsas	Cantidad de larvas escarabajos por especie		Repeticiones
	<i>T. molitor</i>	<i>Z. morio</i>	
WC	80	40	4
EH	80	40	4
EA	80	40	4
CT	80	40	4

EH bolsa compostable, WC bolsa compostable, EA bolsa compostable, CT salvado de trigo.



Figura 32. Contenedores de polipropileno con larvas y plástico compostable

Tabla 11. Datos registrados en cada unidad experimental referentes a consumo, biomasa y ecotoxicidad

Datos registrados por unidad experimental de <i>T. molitor</i> y <i>Z. morio</i>								
Parámetro	Semana							8
	1	2	3	4	5	6	7	
Peso total de las larvas	x	x	x	x	x	x	x	x
Peso del alimento	x	x	x	x	x	x	x	x
Cantidad de larvas vivas	x	x	x	x	x	x	x	x
Peso final total								x
Peso del alimento sobrante								x
Cantidad final de larvas vivas								x

7.4.2. Determinación del porcentaje de consumo de bolsas por la alimentación de larvas de *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio*

Una vez que se establecieron las unidades experimentales como fueron mencionadas en el punto anterior se procedió al registro de la actividad de las larvas. El registro de la alimentación y consumo de las bolsas plásticas compostables se realizó semanalmente, se pesó la cantidad de alimento (bolsa plástica) durante el mismo tiempo que se mantuvo la prueba para cuantificar el consumo de este. También fue pesada la cantidad de alimento que quedo al final de la prueba en todos los tratamientos incluido el grupo control para las unidades experimentales en donde se encontró sobrante de alimento, parámetros considerados en la tabla 11.

La determinación del porcentaje de consumo de bolsas compostables por la alimentación de *Tenebrio molitor* y *Zophoba morio*, fue determinado por diferencia de pesos del material plástico, es decir, se inició con una cantidad en gramos conocida de la bolsa con la cual se alimentó a las larvas (5 g plásticos y 10 grupo control) y una vez concluido el experimento se pesó la cantidad que no fue consumida, el cálculo de se realiza con la ecuación 4:

$$\% \text{ de consumo} = \frac{Pip - Pfp}{Pip} * 100$$

Ec. 4

Donde:

Pip es el peso inicial del plástico (g)

Pfp es el peso final del plástico (g)

7.4.3. Evaluación de ganancia o pérdida de biomasa y ecotoxicidad de las bolsas compostables probadas en *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio*

El registro de los datos de ganancia o pérdida de biomasa de las larvas de ambas especies se realizó semanalmente (cada 7 días) para todas las unidades experimentales establecidas, y durante el periodo de la prueba el cual se estableció según se cumpliera primero una de las siguientes condiciones: cuando las larvas consumieran en su totalidad los 5 g de plástico compostable o máximo 8 semanas (56 días). Es importante mencionar que el registro de la ganancia o pérdida de biomasa se realizó con la suma de los pesos de todas las larvas contenidas en cada unidad experimental.

De igual forma, la sobrevivencia de las larvas fue registrada para ambas especies cada 7 días durante el tiempo del experimento. Para ambas especies se realizó el conteo organismo por organismo de cada unidad experimental registrando únicamente las larvas vivas (sobrevivencia) hasta el día 56, esta acción se realizó empleando un pincel y un bote de 500 mL de polipropileno vacío y limpio. Los registros para ambas especies se realizaron desde el 16 de agosto al 11 de octubre del 2021. En la figura 33 se muestran las larvas de ambas especies separadas para el conteo.



Figura 33. Contenedores larvas de *T. molitor* y *Z. morio* durante un conteo de sobrevivencia.

7.4.4. Análisis de la biodegradación de bolsas compostables mediante el análisis del carbono orgánico total (COT) presente en las heces de las larvas de *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio*

Para obtener el carbono orgánico total de las heces generadas por la digestión llevada a cabo por las especies *T. molitor* y *Z. morio* alimentadas con plásticos compostables se llevó a cabo la siguiente metodología.

Las larvas fueron obtenidas del mismo proveedor y mantenidas de la misma forma como se mencionó en el punto 7.4.1. Una vez que las larvas fueron empleadas, estas fueron separadas del espacio de mantenimiento de acuerdo con su especie y colocadas en 2 peceras de 10 L aproximadamente, en las cuales no se agregó ningún sustrato ni alimento con la intención de realizar una purga o limpieza de sus intestinos. Las larvas de ambas especies fueron mantenidas en esas condiciones durante 2 días aproximadamente que fue el tiempo en el que se dejaron de observar heces las cuales provenían del alimento consumido en las peceras de mantenimiento.

Una vez concluida la etapa de purga fueron preparadas las unidades experimentales las cuales constaron de contenedores de 500 mL con 1 g de plástico compostable cortado en pequeños pedazos de aproximadamente 10 mm x 10 mm, y aproximadamente 7 g de larvas de *T. molitor* para la prueba con esta especie y 15 g para la especie *Z. morio*. De igual forma se contó con grupos control en ambas especies a los cuales se les agrego 1 g de salvado de trigo. A estas larvas no les fue suministrado ningún otro alimento más que el de inicio. En la figura 34 se muestra un ejemplo de las distintas unidades experimentales y en la tabla 12 se muestran las unidades experimentales empleadas.

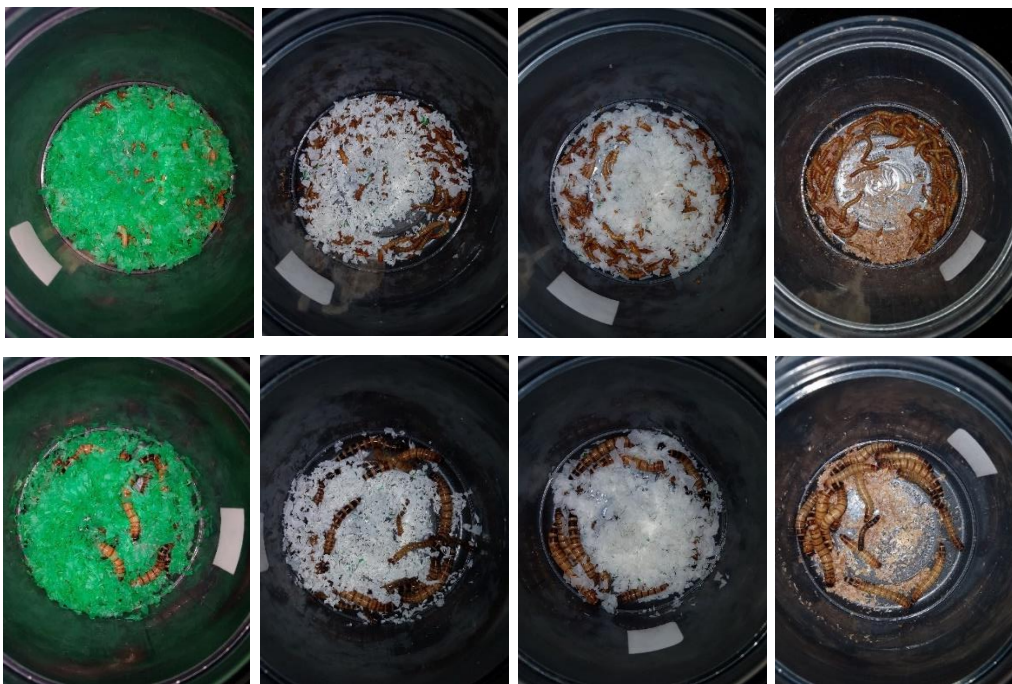


Figura 34. Contenedores de polipropileno con los distintos plásticos compostables y las larvas de *T. molitor* (arriba) y *Z. morio* (abajo) durante la obtención de las heces para la prueba de COT

Tabla 12. Tratamientos establecidos para la prueba de COT en heces de *T. molitor* y *Z. morio*

Tratamientos			
Alimento	Cantidad de larvas escarabajos por especie		Repeticiones
	<i>T. molitor</i>	<i>Z. morio</i>	
1 g de WC	7 g	15 g	3
1 g de EH	7 g	15 g	3
1 g de EA	7 g	15 g	3
1 g de CT	7 g	15 g	3

EH bolsa compostable, WC bolsa compostable, EA bolsa compostable, CT salvado de trigo.

Diariamente fueron retiradas las heces generadas por los organismos de cada unidad experimental mediante el uso de una malla/red con tamaño de poro de aproximadamente 1 mm, y estas fueron contenidas dentro de un pequeño vaso tipo soufflé con tapa etiquetados de acuerdo con la unidad experimental correspondiente. La prueba tuvo una duración de 7 días siendo este el tiempo aproximado en el que los organismos generaron una cantidad de 0.5 g de heces.

Una vez obtenida la cantidad de heces necesaria para las pruebas de COT, las muestras fueron limpiadas con una lupa y pinzas, esta acción buscó retirar de la muestra restos de cutícula de la muda de larvas principalmente y pequeños pedazos de plástico que pudieran filtrarse.

La evaluación del COT fue realizada con un equipo analizador de carbono marca Shimadzu modelo SSM-5000A. Previo a realizar el análisis de COT se prepararon las capsulas de alúmina-porcelana con las que opera el equipo analizador de carbono. Esto se realizó lavando muy bien cada capsula para retirar materia orgánica que pudiera estar incrustada, y posteriormente se enjuagaron con suficiente agua destilada. Finalmente, se introdujeron en una mufla a una temperatura de 900°C durante 30 minutos, y a partir de aquí fueron manipuladas con pinzas.

El análisis de todas las muestras se realizó siguiendo las instrucciones de operación del equipo. Fueron realizadas dos curvas de calibración, una para el carbono total (CT) y otra para el carbono inorgánico (CI) utilizando sacarosa y carbonato de sodio respectivamente, las curvas se realizaron introduciendo al equipo 10, 20 y 30 mg de cada reactivo.

Para la determinación del COT de las heces de las larvas de *T. molitor* y *Z. morio* se pesaron e introdujeron al equipo 50 mg de cada material para la obtención del carbono total (CT) y 50 mg de cada material para la obtención del carbono inorgánico (CI). Es importante mencionar que el Carbono

orgánico total (COT) se obtiene de la resta de CT-CI. En la figura 35 se muestra un ejemplo de las capsulas de alúmina-porcelana conteniendo las heces de larva previo a la introducción de estas al equipo analizador de carbono.

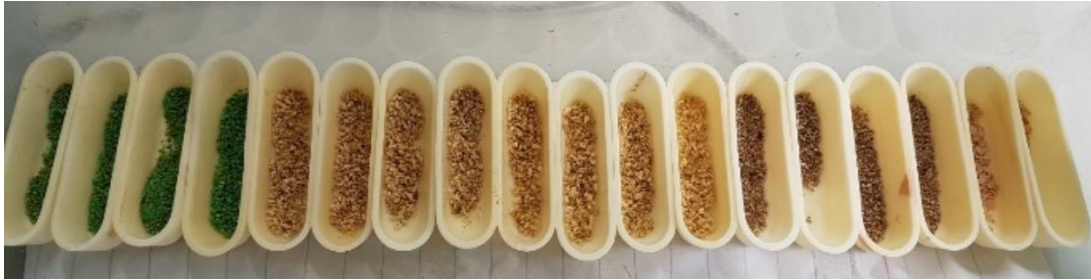


Figura 35. Capsulas de alúmina-porcelana con 50 mg de heces de larvas de *Z. morio*

Para la obtención del % de biodegradación mediante el análisis de COT (B_{cot}) previamente se obtuvo el COT contenido en las bolsas compostables probadas, y posteriormente fue empleada la ecuación número 5 la cual es mostrada en seguida:

$$B_{cot} = \frac{P_{cot} - H_{cot}}{P_{cot}}$$

Ec. 5

Donde:

P_{cot} porcentaje de carbono orgánico total promedio (COT) obtenido en la bolsa compostable a probar (promedio obtenido con mínimo 3 repeticiones).

H_{cot} porcentaje de carbono orgánico total (COT) obtenido en las heces de las larvas que consumieron el plástico a probar.

7.5. Análisis de la composición química del humus generado por las larvas de *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio*

El análisis de la composición química del humus (heces) generado por las larvas de *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio* se llevó a cabo mediante el método de espectrometría de infrarrojo para la detección de polímeros, y mediante espectrometría de masas por plasma inducido (ICP-OES) para los metales.

7.5.1. Análisis de polímeros mediante espectrometría de infrarrojo (IR-ATR)

El análisis de espectroscopia de infrarrojo fue realizado con el espectrómetro infrarrojo marca Thermo Scientific modelo NICOLET 6700 FT-IR, utilizando la técnica de reflectancia totalmente atenuada (ATR) para la cual se utiliza el accesorio ATR. El equipo fue operado según el instructivo de operación del equipo como fue mencionada en el punto 7.3.

Para la obtención de los espectros de infrarrojo de las heces de las larvas fueron utilizados aproximadamente 30 mg de muestra los cuales se colocaron sobre el lente, se realizó el ajuste con el tornillo y se realizó la lectura. Cada que se realizó una nueva lectura se limpió minuciosamente el lente con una microfibra para no dejar residuos que pudieran afectar la siguiente lectura. La lectura del espectro infrarrojo se realizó 5 veces por cada muestra para asegurar que los picos de transmitancia/absorbancia obtenidos fueran conformes.

7.5.2. Análisis de metales por espectrometría de masas por plasma inducido (ICP-OES)

El análisis de contenido de metales en las heces de las larvas de *T. molitor* y *Z. morio* se realizó en el laboratorio de biogeoquímica ambiental del Instituto de Geografía, al igual que para la detección de metales en las bolsas plásticas, para este análisis fue utilizado el horno de microondas y el espectrómetro descrito en el punto 7.3.

Para poder realizar las lecturas de metales previamente fue realizada una digestión de las heces de las larvas. Para llevara a cabo la digestión fueron empleados los siguientes reactivos y materiales: muestras de heces de las larvas de ambas especies que fueron alimentadas con las 3 distintas bolsas

compostables, ácido nítrico al 70%, agua ácida (ácido nítrico al 2%), papel filtro, embudos, matraz aforado de 50 mL y tubos de teflón para digestión.

Fueron pesadas 0.5 g de heces de cada especie de larva por cada distinta bolsa con la que fueron alimentadas en una balanza analítica, posteriormente fueron colocados dentro de los tubos de teflón y se agregaron 8 mL de ácido nítrico al 70%, así mismo, fue preparado un tubo blanco al que solo se le agregaron los reactivos sin muestra de heces, y un tubo con los reactivos y una solución estándar de metales como control. Los tubos de teflón fueron cerraron y ajustados de forma segura con los dispositivos para alta presión, y finalmente se introdujeron al horno de microondas. El horno de microondas fue programado a un ciclo de 20 min para alcanzar la temperatura de 200°C y 15 min para mantener la temperatura de 200°C, una vez concluido el ciclo se esperó a que la temperatura descendiera hasta temperatura ambiente.

Una vez que la temperatura de los tubos llegó a temperatura ambiente que se extrajeron los tubos del horno de microondas, se retiraron con cuidado los dispositivos de seguridad para alta presión, y fueron colocados de acuerdo con su numeración en una gradilla de madera. Posteriormente se extrajo el contenido (heces digeridas) vertiendo este en un embudo con papel filtro acoplado a un matraz aforado de 50 mL, después los tubos de teflón fueron lavados con un poco de agua ácida y el lavado fue vaciado al matraz aforado. Una vez que todo el líquido generado en la digestión se contuvo en los matraces, se realizó un pequeño lavado del papel filtro y embudo con agua ácida (el lavado igual se recolecto en los matraces), se realizó el aforado de cada matraz a 50 mL con agua ácida, se colocó el tapón del matraz y se mezcló el contenido para homogenizarlo.

Finalmente, se vaciaron los 50 mL de los matraces aforados a frascos plásticos con etiqueta de la muestra a la que correspondían y se mantuvieron hasta su lectura en el espectrómetro ICP-OES. La digestión y lectura de cada muestra de heces se realizó por duplicado. La lectura de metales contenidos en las digestiones realizadas fue llevada a cabo el por el técnico del laboratorio encargado de la operación del espectrómetro ICP-OES de la misma forma que fue mencionado y de igual forma se evaluaron los metales descritos en el punto 7.3. En la figura 36 se muestran algunas imágenes del proceso de digestión de las heces de larvas para la determinación de metales.



Figura 36. Fotografías del proceso de digestión de las heces de las larvas de *T. molitor* y *Z. morio*. De izquierda a derecha: 1) pesaje de una muestra, 2) muestras listas para la digestión, 3) adición de ácido nítrico 70% a un tubo de teflón con muestra, 4) Horno de microondas con muestras y 5) matraz aforado de 50 mL con el filtrado de la digestión

7.6. Diseño experimental

El desarrollo del diseño de experimentos para el presente trabajo considerará el modelo establecido por la norma NMX-E-273-NYCE-2019, en la cual se muestra el diseño de un factor analizado con una prueba de ANOVA de un factor con una confianza del 95% y posteriormente una prueba de rangos múltiples (LSD) esto para el empleo de los métodos estandarizados. Este diseño experimental fue empleado para determinar diferencias entre los tratamientos que evaluaron el porcentaje de desintegración, biodegradación aeróbica, ecotoxicidad en la germinación de semillas, y biomasa vegetal. Fue realizando un análisis por cada determinación.

Por otro lado, para el experimento realizado con las larvas de *T. molitor* y *Z. morio* se considera un diseño experimental de bloques al azar y el análisis de los datos se realizará con prueba de ANOVA y posteriormente una prueba de rangos múltiples (LSD). Este diseño experimental fue empleado para determinar diferencias entre los tratamientos con ambas especies, y entre las distintas bolsas, evaluando: porcentaje de consumo de plásticos, porcentaje de biodegradabilidad, porcentaje de biomasa (perdida o ganancia de peso), y porcentaje de supervivencia.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Revisión documental sobre bolsas compostables en México

De acuerdo con los resultados obtenidos durante la investigación realizada sobre bolsas que se anuncian con certificados de compostabilidad y hacen uso de logos de compostabilidad, ya sea para compostaje industrial o casero que circulan en México o que pueden ser adquiridas por distintos distribuidores de México y que pueden ser adquiridas de forma online se enlistan en la tabla 13.

Tabla 13. Bolsas compostables que pueden ser adquiridas en México de forma online

Marca	Material	Certifica
EH	PBAT/PLA/Fécula de maíz	EN 13432
YM	PLA/Fécula de maíz	EN 13432, BPI
VB	Bagazo de Agave	ASTM D6400, ISO 17556, EN 13432
PG	Fécula de maíz	BPI, Austria S0237
GT	Polivitalio Hidrosoluble	EN-13432 Din Cercot
WC	PBAT, PLA y Fécula de maíz	EN 13432
SP	PLA de maíz	ISO 14855
CS	PLA de maíz	No mostrado
BG	PLA de maíz	AS 5810, BPI, EN 13432
EA	PBAT, PLA y Fécula de maíz	BPI, Din Cercot, Vincotte

Así mismo, se realizó una revisión a la lista emitida por la Secretaría de Medio Ambiente de la Ciudad de México (SEDEMA) de empresas autorizadas y con registro para la comercialización de bolsas compostables, las distintas empresas y su registro pueden observarse en la tabla 14:

Tabla 14. Lista de empresas autorizadas para la comercialización de bolsas compostables en Ciudad de México.

No	Razón social	Tipo de registro solicitado	Descripción de cada producto autorizado	Registro
1	Grupo Eme 13, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable hecha de Ácido Poliláctico (PLA) y almidón. Bolsa compostable de Poli (Butilén Adipato-co- Tereftalato) (PBAT).	GET-09-SEDEMA-CBCO-001

No	Razón social	Tipo de registro solicitado	Descripción de cada producto autorizado	Registro
2	Poliétileno Publicitario, S.A.	Bolsas compostables	Bolsa hecha de material compostable.	PPU-09-SEDEMA-CBCO-002
3	KabiAx, S.A. de C.V. (Green Team)	Bolsas compostables	Bolsa compostable (bax rollo). Bolsa compostable (bax pupo rollo).	KAB-09-SEDEMA-CBCO-004
4	Eco Alternativas Mexicanas, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable hecha de fécula de maíz distintas medidas	CDS-09-SEDEMA-CBCO-006
5	Planet Plastics, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable distintas medidas	PPL-09-SEDEMA-CBCO-007
6	Grupo Impobol, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa hecha de material compostable distintas medidas.	GIM-09-SEDEMA-CBCO-009
7	Tecflex, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable, elaborada de fécula de maíz distintas medidas.	TEC-09-SEDEMA-CBCO-010
8	Multibolsas Plásticas, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable elaborada de Ácido Poliláctico distintas medidas.	MPL-09-SEDEMA-CBCO-011
9	Anguiplast, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable, elaborada de Ácido Poliláctico distintas medidas.	ANG-09-SEDEMA-CBCO-012
10	Bioelementos de México, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable elaborada de Ácido Poliláctico y Poli (Butilén Adipato-co-Tereftalato)	BME-09-SEDEMA-CBCO-017
11	Comercializadora Cantú, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa mediana, elaborada de material compostable distintas medidas	CCA-09-SEDEMA-CBCO-024
12	Polisigma, S.A.	Bolsas compostables	Empaque elaborado de material compostable	POL-09-SEDEMA-CBCO-029
13	Alta Tecnología en Empaque, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa elaborada de material compostable distintas medidas	ATE-09-SEDEMA-CBCO-050
14	Plastiflex, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable, elaborada de fécula de maíz distintas medidas	PLA-09-SEDEMA-CBCO-053
15	Ibalma, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsas compostables elaboradas de Poli (Butilén Adipato-co-Tereftalato), de color verde distintas medidas.	IBA-09-SEDEMA-CBCO-055
16	Smart Air, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa chica elaborada de material compostable distintas medidas	SAI-09-SEDEMA-CBCO-059
17	Teknopellets, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa de material compostable distintas medidas	TEK-09-SEDEMA-CBCO-062
18	Carredana de Empaques, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable, color verde distintas medidas.	CEM-09-SEDEMA-CBCO-069
19	Bio Products GT, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable, elaborada de fécula de maíz distintas medidas	BPG-09-SEDEMA-CBCO-081
20	Industrial Ebro Quimex, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa troquelada, elaborada de Ácido Poliláctico distintas medidas.	IEQ-09-SEDEMA-CBCO-091
21	Winsnes de México, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa troquelada, de color verde, elaborada de material compostable distintas medidas	WME-09-SEDEMA-CBCO-094
22	Plásticos Cantabria, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable elaborada de Poli (Butilén Adipato-co-Tereftalato) distintas medidas.	PCA-09-SEDEMA-CBCO-122
23	Plásticos del Moralillo, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable distintas medidas	PMO-09-SEDEMA-CBCO-124
24	Poliétilenos Comerciales de México, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable, en rollo.	PCM-09-SEDEMA-CBCO-125

No	Razón social	Tipo de registro solicitado	Descripción de cada producto autorizado	Registro
25	Plásticos Florencia, S. de R.L. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa elaborada de material compostable	PFL-09-SEDEMA-CBCO-132
26	Grupo Biosfer Choice, S.A.P.I. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable, en rollo distintas medidas.	GBC-09-SEDEMA-CBCO-142
27	Bioempaques Flexibles de México, S.A.P.I. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa composable distintas medidas	BFM-09-SEDEMA-CBCO-149
28	Anacristy Rodríguez Pacheco	Bolsas compostables	Bolsa compostable, tipo camiseta	ROP-09-SEDEMA-CBCO-152
29	Polidasa, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	Bolsa compostable 2 medidas	POL-09-SEDEMA-CBCO-154

De igual forma se realizó una revisión de las empresas que han solicitado a la SEDEMA registro para la venta y comercialización de bolsas compostables en la ciudad las distintas empresas pueden observarse en la tabla 15:

Tabla 15. Empresas que han solicitado registro para comercialización de bolsas compostables en ciudad de México.

No	Razón social	Tipo de registro solicitado	Descripción de cada producto autorizado	Registro
1	Somos Entelequia, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	-	-
2	Polibolsas mexicanas, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	-	-
3	Juana Rita Sánchez Leyva	Bolsas compostables	-	-
4	Plazteca, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	-	-
5	Packlife, S.A. de C.V.	Bolsas compostables	-	-

Como puede observarse en la tabla 14 y 15 existen 29 empresas autorizadas para la comercialización y distribución de bolsas compostables en la Ciudad de México y 5 que están en trámite de registro.

De acuerdo con la SEDEMA 18 de marzo del 2020 se emitió el “AVISO POR EL QUE SE DAN A CONOCER LOS CRITERIOS QUE DEBEN CUMPLIR LAS BOLSAS DE PLÁSTICO COMPOSTABLES EN LA CIUDAD DE MÉXICO” de acuerdo con este aviso en su punto noveno y décimo las normas que deben cumplirse para obtener un número de registro como bolsa compostable son las siguientes:

- *ASTM-6400: Especificaciones para el etiquetado de plásticos diseñados para ser compostados aeróbicamente en instalaciones municipales o industriales.*
- *EN-13432: Requisitos para envases y embalajes valorizables mediante compostaje y biodegradación. Programa de ensayo y criterios de evaluación para la aceptación final del envase o embalaje.*
- *ISO-17088: Especificaciones para plásticos compostables.*
- También se podrá requerir, a costa del interesado, la elaboración de estudios complementarios realizados por alguna institución técnica, académica, científica o de investigación reconocida.

De igual forma menciona que pueden ser normas equivalentes tanto nacionales como internacionales, sin embargo, México ya cuenta con regulación propia y no se menciona de la norma *NMX-E-273-NYCE-2019 Industria del plástico – Plásticos compostables – Especificaciones y métodos de prueba.*

Por otro lado, como puede observarse en la tabla 14 y 15 entre los materiales que predominan en el mercado mexicano para la fabricación de bolsas compostables encontramos el Polibutilén Adipato-co-Tereftalato (PBAT) reportado por 4 empresas, el ácido poliláctico (PLA) reportado por 4 empresas, fécula o almidón de maíz también por 4 empresas, y finalmente 18 empresas reportan material compostable el cual no se especifica, no obstante, es probable que se dé mezcla de los anteriores o algunos otros polímeros derivados de almidón. De acuerdo con Nandakumar et al., 2021, en la actualidad los bioplásticos que dominan el mercado son, el ácido poliláctico (PLA), el poliadipato-co-tereftalato de butileno (PBAT) y los polímeros a base de almidón, pudiendo ser almidón nativo o almidón termoplástico (TPS), lo cual pudo constatarse en los resultados obtenidos en esta investigación, de igual forma, también son reportados los polímeros Mirel, Bio-PET, mezclas de almidón con policaprolactona (PCL) y succinato de polibutileno (PBS), pudiendo ser algunos de estos lo que algunos fabricantes reportan como material compostable no especificado.

De acuerdo con otros autores como Valero-Valdivieso et al., 2013 existen distintas razones por las cuales estos biopolímeros sean los más comunes para la producción de artículos biodegradables y compostables, entre una de las principales encontramos el costo de producción, por ejemplo la obtención de Polihidroxialcanoatos (PHA) otros de los biopolímeros prometedores se encuentran en

torno a los \$5.5 dólares por kilogramo siendo esta su principal desventaja, en contra parte las mezclas de PBAT/PLA/fécula de maíz rondan los \$2.9 dólares por kilogramo. Otra de las razones por las que es común encontrar PBAT, PLA y almidón de maíz es que son polímeros muy estudiados y que pueden ser manejados en la industria fácilmente. De acuerdo con Jian et al., 2020, Rudnik, 2019 e Ingraio et al., 2015, PBAT es procesable en plantas convencionales de película soplada aplicadas a polietileno de baja densidad lo que puede contribuir a la reducción del costo de producción del material, de igual forma, PLA exhibe un alto módulo de tracción, resistencia a la radiación UV y grasas, y la capacidad de ser procesado por métodos convencionales. PBAT es exitoso en la industria debido a que es un polímero flexible y resistente, se puede mezclar con otros polímeros para sustituir el polietileno de baja o alta densidad, de igual forma, PBAT se puede sintetizar fácilmente utilizando tecnología de fabricación de poliéster convencional, lo que hace posible obtener producciones considerables de PBAT en un corto plazo, también muestra buena biodegradabilidad y excelentes propiedades físicas, por lo que puede ser usado en muchos campos de la industria siendo uno de los principales el embalaje.

Por otro lado, Fabunmi et al., 2006 reportaron que dentro de la industria de los biopolímeros los de fabricados a base de almidón representa aproximadamente el 50 % del mercado mundial de este ramo y constituye muchos de los termoplásticos que se utilizan en la actualidad, esto es debido a que el almidón se considera un buen relleno, es económico, biodegradable y tiene una estabilidad térmica adecuada para no interferir con el proceso de fluidez de otros polímeros. No obstante, se tiene reportes que el almidón provoca una pérdida de propiedades mecánicas y produce una baja adherencia. Por tanto, el uso de almidón por sí solo no es viable ya que no muestra resistencia a la humedad ni muestra propiedades suficientes para el proceso de fusión, siendo una de las razones por las que se encuentra en mezcla con distintos polímeros (Nandakumar et al., 2021).

Por todo lo anterior se puede comprender por qué la industria de los plásticos compostables tiende a emplear como materia prima estos biopolímeros en la producción de distintos artículos de un solo uso, y porque en CDMX los materiales antes mencionados (PBAT/PLA/Almidón de maíz) son los más comunes. Es muy probable que la tendencia en el uso de los polímeros antes mencionados sea mundial como ejemplo se puede mencionar a Colombia en donde también se reporta que en la actualidad gran parte de artículos desechables tales como vasos, tenedores, platos, cucharas, bolsas, entre otros, son fabricados a partir de PLA y toda una gama de otros poliésteres biodegradables como el PBAT, y el PBS (Moreno et al., 2019).

8.2. Pruebas de desintegración, biodegradación aeróbica y ecotoxicidad realizada a 3 bolsas compostables

En los puntos 8.2.1, 8.2.2. y 8.3.3. se muestran los resultados obtenidos en las pruebas de desintegración, biodegradación aeróbica y ecotoxicidad llevando a cabo los métodos establecidos por la norma NMX-E-273-NYCE-2019 y su análisis.

8.2.1. Porcentaje de desintegración (D) de acuerdo con la norma ISO 20200:2015

Los resultados obtenidos para esta prueba se muestran en la tabla 16, en la tabla 17 se muestran los resultados obtenidos que corroboran la validez del proceso de compostaje para cada reactor evaluando el decrecimiento de sólidos volátiles como indica la normatividad, y en la figura 37 se muestran los restos de plástico recuperados de las distintas bolsas probadas después de los 54 días de compostaje.

Tabla 16. Porcentaje de desintegración y porcentaje de recuperación de las bolsas plásticas compostables probadas

Biorreactor (Repeticiones)	Peso Inicio (g)	Peso final (g)	% de desintegración (D)	% de recuperación
EH1	15	0.46	96.93	3.07
EH2	15	0.95	93.67	6.33
EH3	15	0.43	97.13	2.87
Promedio	15	0.613	95.91	4.09
WC1	15	3.44	77.07	22.93
WC2	15	3.59	76.07	23.93
WC3	15	3.48	76.80	23.20
Promedio	15	3.503	76.64	23.36
EA1	15	1.8	88.00	12.00
EA2	15	1.05	93.00	7.00
EA3	15	1.31	91.27	8.73
Promedio	15	1.387	90.76	9.24
CT-1	15	15	0.00	100.00
CT-2	15	15	0.00	100.00
CT-3	15	15	0.00	100.00
Promedio	15	15	0.00	100.00

EH bolsa compostable, WC bolsa compostable, EA bolsa compostable, CT- bolsa de polipropileno negra.

Tabla 17. Resultados obtenidos de la validación porcentaje de decrecimiento de sólidos volátiles (R) en cada biorreactor

Biorreactor (Repetición)	Valor R
EH1	42.5
EH2	45.9
EH3	46.4
WC1	44.5
WC2	43.6
WC3	40.9
EA1	43.1
EA2	37.9
EA3	44.3
CT1	45.6
CT2	46.4
CT3	37.2



Figura 37. Plásticos compostables recuperados después de concluida la prueba de desintegración.

De izquierda a derecha: polipropileno, bolsa WC, arriba bolsa EA, abajo bolsa EH

Como puede observarse en la tabla 16, de las 3 bolsas probadas para evaluar el porcentaje de desintegración solo 2 pasaron la prueba en el tiempo en que se llevó a cabo siendo estas, la bolsa EH

mostrando un valor D de 95.91% y un porcentaje de recuperación de 4.08% en promedio, y la bolsa EA mostro un valor D de 90.75% y un porcentaje de recuperación de 9.24% en promedio, en contraste, la bolsa WC mostro un valor D de 76.64% y un porcentaje de recuperación de 23.35% en promedio, y finalmente la bolsa control negativo fabricada de polipropileno (CT) con un valor D de 0% y un porcentaje de recuperación del 100% en promedio, lo cual era esperado para esta última. Así mismo, al realizar el análisis de varianza (ANOVA) se obtuvo una F igual a 2276.36 siendo mayor que el valor $\alpha_{0.05}$ igual 4.07 indicando que existen diferencias significativas entre la tasa de desintegración (D) de las bolsas probadas. Posteriormente la prueba de LSD mostro un valor de 8.62 con el cual se comparó la diferencia de las medias de los distintos tratamientos, dicha comparación indico que existe diferencia significativa entre la media de CT y la media de todas las bolsas compostables (resultado esperado), de igual forma se obtuvieron diferencias significativas entre la bolsa WC y las bolsas EA y EH, y finalmente no se mostraron diferencias significativas entre las bolsas EA y EH.

Es importante mencionar que la norma *NMX-E-273-NYCE-2019 Industria del plástico – Plásticos compostables – Especificaciones y métodos de prueba*, menciona que esta prueba debe realizarse durante 84 días para poder dar un resultado aceptable, lo cual no pudo ser llevado a cabo en el presente trabajo por motivos de tiempo, sin embargo, es muy probable que, si la prueba hubiera completado el tiempo establecido, todas las bolsas compostables probadas mostrarían un valor D mayor o igual al 90% lo cual acreditaría su desintegración y posiblemente no se observarían diferencias significativas, no obstante, se lograron observar tasas de desintegración distintas en el día 54 indicando que posiblemente la composición de las bolsas y sus características físicas influyan en estos resultados.

En relación con la validez de los resultados, en la tabla 17 se muestran los resultados de la validación del proceso de compostaje de cada biorreactor sometido a prueba. Mediante la ecuación de decrecimiento de sólidos volátiles (R), pudo constatar que todos los biorreactores superaron la R 30% que es el mínimo valor para considerar acreditable el resultado, los biorreactores se ubicaron entre 37% y 46%. De acuerdo con la norma 20200 un valor R común para esta prueba es de 42.3%, valor similar a los obtenidos en el estudio. De igual forma, puede observarse en la tabla 24, que los valores D obtenidos en cada repetición de cada bolsa prueba no varían en más del 20% siendo este un indicador de que la prueba cumplió con los requisitos metodológicos como es mencionado en la norma ISO 20200:2015.

Los resultados obtenidos en esta prueba parecen seguir la misma tendencia que los reportados por Vaverkova et al., 2012, quienes utilizando la misma metodología descrita por la norma ISO 20200, reportaron una desintegración del 99.00 al 100.00% en 84 días para bolsas fabricadas de dos polímeros compostables como son almidón y almidón + policaprolactona. El control negativo utilizado fue polietileno de alta densidad (HDPE) el cual presento una desintegración de 0.00%, resultado similar al obtenido al usar polipropileno (PP). De igual forma Intaraksa et al., 2013, reportaron una desintegración de 100.00% de películas de PLA en 84 días (según ISO 20200). Sarasa et al., 2009, reportó una tasa de desintegración del 63.6% para PLA puro y del 79.7% para una mezcla de PLA/almidón. Y Arrieta, 2014, reporto una desintegración mayor al 90% en PLA y mezclas de PLA/PHB.

Siriyota et al., 2012, realizando el mismo método, obtuvieron una desintegración de 80.57% y 91.08% en 90 días para dos mezclas de polímeros compostables fabricados de PBAT marca ECOFLEX y almidón (50:50 %wt) y PBAT marca EMPOL y almidón (50:50 %wt), en contra parte, obtuvieron desintegración del 25.91% en el polímero ECOFLEX sin mezclar y 56.29% en el polímero EMPOL también sin mezclar, lo que incida que el contenido de almidón influye en gran medida sobre la tasa desintegración. En relación con esto Gattin et al., 2002 menciona que en algunos estudios se ha mostrado que el contenido de almidón en mezcla con otros polímeros biodegradables, ayuda a la desintegración y posible biodegradación de películas plásticas compostables, esto debido a que el almidón es un polímero altamente biodegradable, y su biodegradación puede estimular la degradación química y fragmentación de los otros polímeros, de igual forma, Nandakumar et al., 2021, menciona que durante la degradación, las mezclas de polímeros con almidón puede debilitarse debido a la actividad de los microbios en la porción de almidón lo que generalmente conduce a una biofragmentación.

De acuerdo con el párrafo anterior, se observa que los resultados obtenidos en este estudios son coherentes con otros estudios, y que también fue posible observar diferencias en los porcentajes de desintegración para cada bolsa probada, dicha situación puede estar relacionado directamente con las proporciones de cada polímero que las componen (PBAT/PLA/almidón de maíz) ya que como fue mencionado anteriormente, aunque las bolsas probadas están compuestas de los mismos compuestos su composición porcentual puede variar significativamente (ver tabla 5).

Por otro lado, es probable que algunas condiciones físicas como el grosor también hayan influido en los resultados, por ejemplo, Cucina et al., 2021 evaluó la desintegración de bolsas plásticas fabricadas

con almidón y vajillas desechables de PLA obteniendo como resultado una desintegración del 70% para las bolsas y 25% para los productos varios de PLA siendo un ejemplo de cómo las características físicas influyen en la desintegración.

De acuerdo con Chinaglia et al., 2018, la degradación de los biopolímeros (biofragmentación de por medio) parece depender del área superficial del polímero, ya que observaron que esta puede limitar en la mayoría de los casos la degradación, a mayor área superficial mayor degradación. Dicha situación es atribuible a que la degradación de estos materiales es causada principalmente por enzimas, y las enzimas se ven limitadas por el tamaño de la superficie. De igual forma Jian et al., 2020, mencionan que la tasa de degradación depende de algunos factores como el grosor del material, las condiciones de compostaje y la composición química del material, pudiendo encontrarse muchas posibilidades al modificar estos factores.

Como se ha mencionado la desintegración de estos materiales está muy relacionada con la biodegradación de los mismos, sin embargo, la desintegración no es un equivalente a biodegradación, ya que un material puede desintegrarse sin que esto lleve de por medio una biodegradación, por ejemplo, Dammak et al., 2020 reportaron que en una prueba de evaluación visual y diferencia de masa aplicada a polímeros PBAT, TPS (puros) y mezclas de los mismos con y sin compatibilizadores, no se mostraron diferencias significativas entre los tratamientos, en contraste, si se mostraron diferencias significativas en los porcentajes de biodegradación realizando medición de CO₂ por captura; estos resultados reflejan una tendencia similar a los obtenidos en el presente trabajo, poniendo como ejemplo la bolsa EH donde se obtuvo un porcentaje de desintegración mayor al 90%, pero en la prueba de biodegradación se determinó un porcentaje del 3.11% (ver tabla 28).

8.2.2. Porcentaje de biodegradación aerobia (D_t) de acuerdo con la norma ISO 14855:2018

Los resultados obtenidos sobre la caracterización del inóculo que fue utilizado para la prueba de biodegradación aerobia se muestran en la tabla 18, de igual forma, los resultados de carbono orgánico total (COT) contenido en las distintas bolsas y material referencia (control) se muestra en la tabla 19.

Tabla 18. Masa seca, sólidos volátiles y pH determinados en el inóculo que fue empleado en la prueba de biodegradación aerobia

Inóculo (Repeticiones)	Muestra (g)	Peso agua (g)	Masa seca (g)	% Masa seca	Sólidos volátiles (g)	% Sólidos volátiles	pH
1	10	5.396	4.604	46.04	1.5877	34.4852	7.91
2	10	5.369	4.631	46.31	1.6018	34.5886	7.90
3	10	5.359	4.641	46.41	1.6262	35.0399	7.87
Promedio	10	5.375	4.625	46.253	1.6052	34.705	7.893

Como puede observarse en la tabla 18, el inóculo que fue ocupado para la prueba de biodegradación aerobia cumplió con las características establecidas por la norma "ISO 14855:2018-2", en la cual se indica que el inóculo debe contener entre 35 y 55% de masa seca, el contenido de sólidos volátiles debe ser del 30% o mayor en la masa seca previamente obtenida, y el pH del inóculo debe encontrarse entre 7.0 y 9.0 en la escala de pH.

De acuerdo con la tabla 19, la bolsa que presento el valor más alto de COT fue la WC con 53.85% en promedio, seguido de la bolsa EH con 34.87% y EA con 34.38%. Cómo puede apreciarse existe una gran diferencia entre la bolsa WC y las bolsas EH y EA, así mismo se observa una gran diferencia entre en todas las bolsas y el material referencia control (celulosa microcristalina). Las bolsas EH y EA parecen no mostrar diferencias claras en su contenido de COT.

Tabla 19. Carbono total, orgánico e inorgánico presente en las bolsas compostables utilizadas y el material de referencia

Bolsa/Material (Repetición)	Carbono Orgánico Total (COT)	Carbono Inorgánico (CI)	Carbono Total (CT)
EH1	35.18%	0.02%	35.20%
EH2	34.80%	0.05%	34.85%
EH3	34.63%	0.00%	34.63%
Promedio	34.87%	0.02%	34.89%
WC1	54.85%	0.08%	54.93%
WC2	53.43%	0.13%	53.56%
WC3	53.28%	0.07%	53.35%
Promedio	53.85%	0.09%	53.95%
EA1	35.03%	0.00%	35.03%
EA2	34.30%	0.00%	34.30%
EA3	33.80%	0.00%	33.80%
Promedio	34.38%	0.00%	34.38%
CT1	25.63%	0.00%	25.63%
CT2	24.74%	0.00%	24.74%
CT3	25.45%	0.00%	25.45%
CT4	27.00%	0.00%	27.00%
Promedio	25.71%	0.00%	25.71%

EH bolsa compostable, WC bolsa compostable, EA bolsa compostable, CT celulosa microcristalina.

Al realizar el análisis de varianza (ANOVA) se obtuvo una F igual a 1207.62 siendo mayor que el valor $\alpha_{0.05}$ igual 4.07 indicando que existen diferencias significativas entre el contenido de carbono orgánico (COT) de las bolsas probadas y el material de referencia. Posteriormente la prueba de LSD mostro un valor de 0.032 con el cual se comparó la diferencia de las medias del contenido de COT de cada bolsa y el material de referencia, dicha comparación indico que existe diferencia significativa entre la media de CT y la media de todas las bolsas compostables, de igual forma se obtuvieron diferencias significativas entre la bolsa WC y las bolsas EA y EH, y finalmente no se mostraron diferencias significativas entre las bolsas EA y EH.

Estos resultados pueden deberse a la variabilidad en la composición de las bolsas, pues de acuerdo con datos técnicos de cada fabricante la bolsa WC presenta una composición constante, la bolsa EH muestra una composición variable, y finalmente la bolsa EA no muestra la proporción de su composición, pero los resultados indican que puede ser similar a la de EH. También puede existir alguna influencia de la pureza y calidad de los polímeros usados para su fabricación. Por otro lado, es

importante mencionar que durante las mediciones de carbono inorgánico las muestras de la bolsa EA se mostraron recalcitrantes, pues no mostraron reacción con el ácido fosfórico usado para dicha prueba dando como resultado 0% en todas las repeticiones como puede observarse en la tabla 19.

Los resultados del porcentaje de biodegradación (D_t) obtenidos en el presente trabajo se muestran en las figuras 38, 39 y 40 (gráficas de biodegradación aerobia última obtenidas en los distintos biorreactores con relación al tiempo).

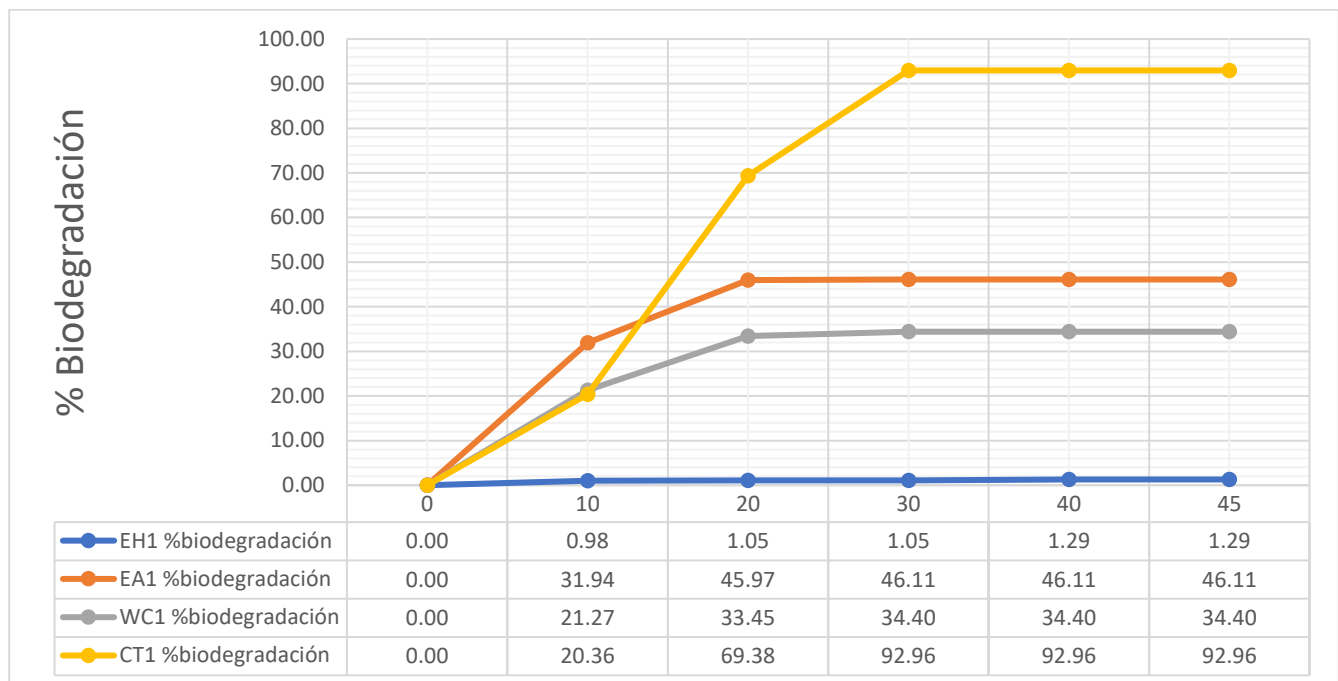


Figura 38. Gráfica de porcentaje de biodegradación aerobia última con respecto al tiempo (días), los datos mostrados corresponden a las repeticiones número 1 de todos los tratamientos

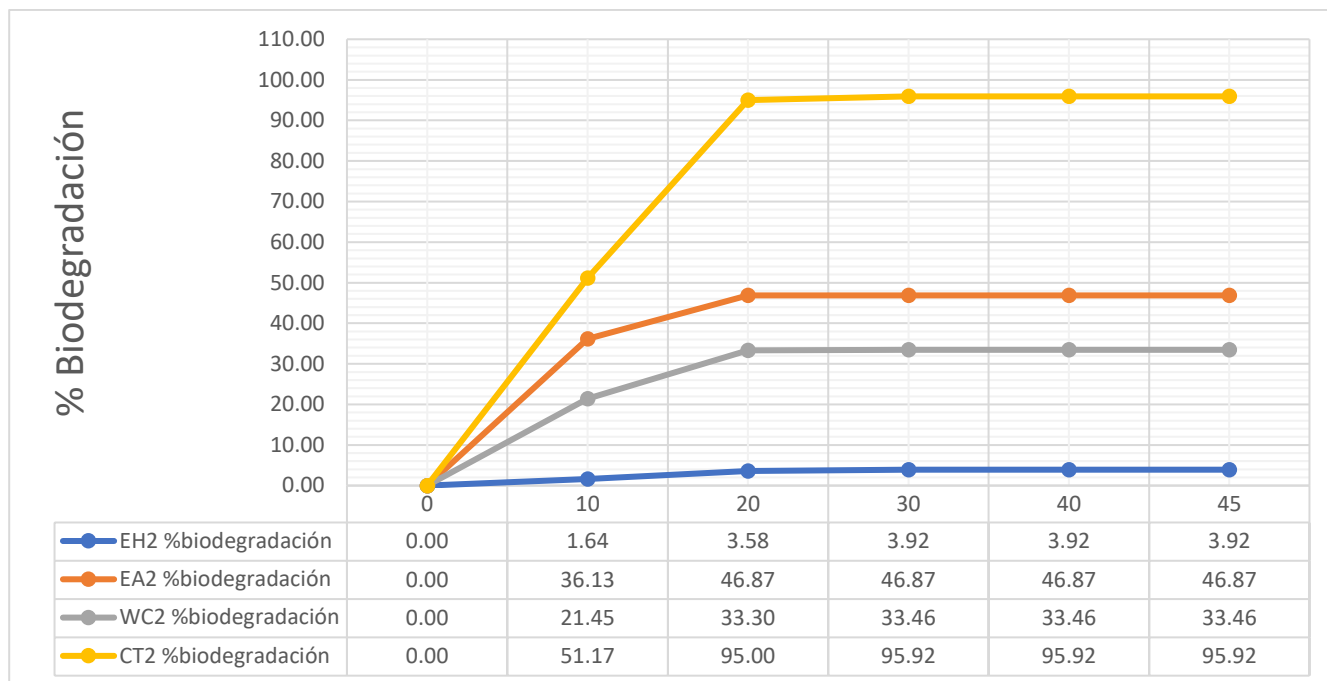


Figura 39. Gráfica de porcentaje de biodegradación aerobia última con respecto al tiempo (días), los datos mostrados corresponden a las repeticiones número 2 de todos los tratamientos

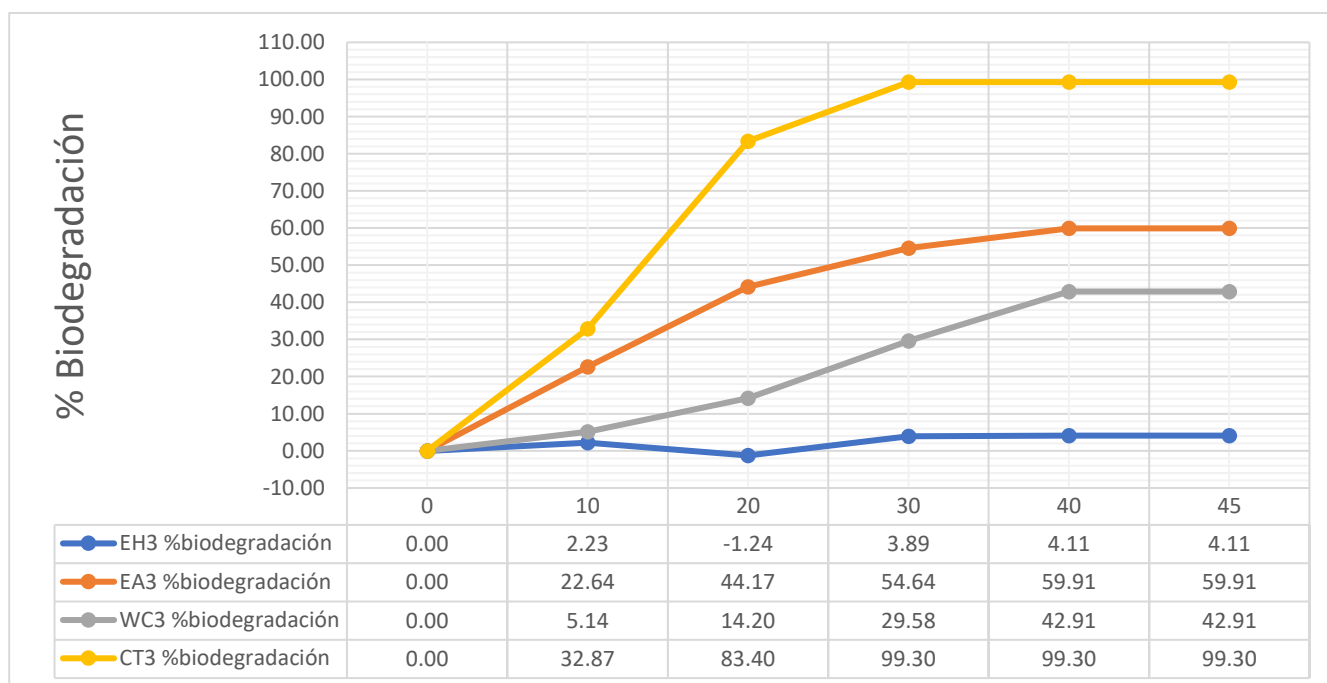


Figura 40. Gráfica de porcentaje de biodegradación aerobia última con respecto al tiempo (días), los datos mostrados corresponden a las repeticiones número 3 de todos los tratamientos

Como puede observarse en las figuras 38, 39 y 40, de las 3 bolsas que fueron probadas para evaluar el porcentaje de biodegradación aerobia ninguna logró el valor mínimo requerido para acreditar la prueba el cual es del 90% con relación al CO₂ teórico calculado. La bolsa que obtuvo el mayor porcentaje en promedio fue EA con una D_t de 50.96%, seguido de la bolsa WC con una D_t de 36.92%, y finalmente la bolsa EH que mostro un D_t de 3.11% en promedio, en contraste, el grupo control con el material de referencia CT mostró una biodegradación aerobia del 96.06% en promedio siendo esto un buen indicador de montaje y ejecución de la prueba.

De igual forma al observar las figuras 38 y 39 se puede apreciar que el intervalo de tiempo ronda los 20 y 30 días para obtener el grado último de biodegradación aerobia en todos los tratamientos incluyendo el grupo control, sin embargo, en la figura 40 se observa un tiempo más largo para obtener la biodegradación última, lo cual puede deberse a que los resultados mostrados en la figura 38 y 39 se obtuvieron al mismo tiempo ya que fueron montados juntos estos biorreactores (etapa 1), y los mostrados en la figura 40 fueron obtenidos en otra etapa (etapa 2).

Al realizar el análisis estadístico se obtuvo una F igual a 178.46 siendo mayor que el valor $\alpha_{0.05}$ igual a 4.07 indicando que existen diferencias significativas entre la tasa de biodegradación aerobia (D_t) de las distintas bolsas probadas incluyendo el grupo control. Posteriormente la prueba de LSD mostro un valor de 26.59 con el cual se comparó la diferencia de las medias de los distintos tratamientos, dicha comparación indico que existe diferencia significativa entre la media de CT y la media de todas las bolsas compostables, de igual forma se obtuvieron diferencias significativas entre la bolsa EH y las bolsas EA y WC, y finalmente no se mostraron diferencias significativas entre las bolsas EA y WC.

Los resultados obtenidos indican que ninguna de las bolsas probadas es biodegradable de acuerdo con la metodología implementada y el valor mínimo requerido establecido por la normatividad, no obstante, puede decirse que las bolsas EA y WC son parcialmente biodegradables o no 100% biodegradables, pero si muestran cierto grado de biodegradación, ya que si se mostró un porcentaje de biodegradación próximo al 50% en relación con el carbono orgánico total que contienen. Por otro lado, la bolsa EH podría considerarse no biodegradable ya que el valor obtenido fue muy bajo en relación con el carbono orgánico total que contiene.

Con respecto a la validez de los resultados obtenidos, como anteriormente fue mencionado la norma ISO 14855-2:2018 indica que para considerar validos los resultados obtenidos en esta prueba es

necesario que se observen las siguientes condiciones: a) El material de referencia (celulosa microcristalina) debe mostrar una biodegradación del 70% o mayor después de 45 días compostaje. b) La diferencia entre el porcentaje de biodegradación del material de referencia en los diferentes envases (biorreactores control) debe ser menor del 20% al final de la prueba. c) El inóculo en el contenedor blanco debe producir entre 50 y 150 mg de CO₂ por gramo de sólidos volátiles (valor promedio) después de 10 días de incubación.

Como puede observarse en las gráficas 39, 40 y 41, los resultados obtenidos de D_t para todas las repeticiones del grupo control fueron mayores al 90% lo que da cumplimiento a la primera condición (inciso a), de igual forma, no se observó una diferencia mayor al 20% en el porcentaje de biodegradación de los tres biorreactores que conforman el grupo control dando cumplimiento a la segunda condición (inciso b). Finalmente, se observó que los biorreactores blanco colocados en la primera etapa de la prueba generaron 169.2 mg (Blanco 1) y 196.3 mg (Blanco 2) (que en promedio da un valor de 182.8 mg) en los primeros 10 días de la prueba siendo un valor que se encuentra dentro de lo esperado y que da cumplimiento a la condición de inciso c), no obstante, el valor obtenido en blanco 3 fue de 513.4 mg, valor por encima de lo esperado, sin embargo, como no se mostraron grandes diferencias entre los resultados obtenidos al final entre la fase 1 y 2 se consideró pertinente incluirlos en el análisis.

Al comparar los resultados obtenidos en el presente estudio con algunos en donde se emplearon metodologías similares para la evaluación del porcentaje de biodegradación sobre polímeros puros o mezclas de polímeros compostables/biodegradables, se observaron resultados muy diversos, siendo similares o muy diferentes a los reportados, no obstante, se mostró constancia en el porcentaje de biodegradación logrado por la celulosa microcristalina (control). Como ejemplo se puede mencionar el trabajo realizado por Tabasi y Aji, 2015, quienes realizaron un estudio donde evaluaron el porcentaje de biodegradación aeróbica de PLA, PBAT y en una mezcla de ambos polímeros 50/50, reportando que la biodegradación del PLA fue de aproximadamente del 70%, PBAT mostro un 35% aproximadamente, y la mezcla de ambos polímeros presento 43% de biodegradación. El porcentaje de biodegradación de su grupo control fue del 93% aproximadamente. Estos resultados mostraron una tendencia similar a los mostrados en las figuras 38, 39 y 40.

Dammak et al., 2020 evaluaron la biodegradación de mezclas de PBAT con almidón termoplástico (TPS), sus resultados mostraron que el porcentaje de biodegradación de TPS y PBAT de forma pura

alcanzaron un valor mayor al 90% en 90 días considerándolos materiales biodegradables, de igual forma, el material de referencia usado (celulosa microcristalina) también alcanzo una biodegradación mayor al 90%, siendo este un resultado similar al presentado en la tabla 28. No obstante, los mismos autores reportaron que el porcentaje de biodegradación se veía afectado según la composición de la mezcla (proporción de polímeros) y compatibilizador agregado para unificar las mezclas, encontrando que la mezcla de PBAT/TPS con un compatibilizador llamado PBAT_g logro de 72 a 74% de biodegradación. Los resultados mostrados por estos autores contrastan con lo reportado por Tabasi y Aji, 2015, ya que empleando una metodología equivalente se observaron resultados muy diferentes en el porcentaje de biodegradación del PBAT. No obstante, se observa la tendencia de que al mezclar polímeros se logra modificar la tasa de biodegradación.

Petinakis et al., 2010, usando el estándar ISO 14855 reportaron una biodegradación de PLA y distintas mezclas de PLA/Almidón siendo estas, PLA 60%/almidón 40%, PLA 90%/almidón 10%, y una mezcla de PLA y harina de madera. La biodegradación reportada fue menor del 60% para el PLA puro, 80% para la primera mezcla, 60% para la segunda y de 50% para la última mezcla. En este estudio también se reportó una biodegradación de la celulosa microcristalina mayor al 70% en 40 días. En otro estudio realizado por Cadar et al., 2012, donde se evaluó el porcentaje de biodegradación de PLA y copolímeros de PLA durante 110 días reportando un porcentaje de biodegradación para el PLA puro (sintetizado por los autores) del 72%, PLA obtenido en el mercado 69%, y copolímeros 1, 2 y 3 del 37%, 69% y 33% respectivamente, en concordancia con los estudios citados el control (celulosa microcristalina) mostro un porcentaje de biodegradación del 76%. Y en el estudio realizados por Ahn et al., 2011, donde evaluaron el porcentaje de biodegradación de macetas fabricadas con PLA, y mezclas de PLA con harina de plumas y almidón. Se reportó un porcentaje de biodegradación del 13% para PLA, y 53% para la mezcla con 15% de almidón. Los autores mencionan que es probable que el proceso de fabricación de las macetas (extrusión y moldeo) o la adición de compatibilizadores influyeran en los resultados.

Otros resultados mostrados por Ruggero et al., 2019 y Emadian et al., 2017, quienes realizaron una revisión sobre distintitos estudios donde se evaluó el porcentaje de biodegradación de distintos polímeros siguiendo el estándar ISO 14855 y otras metodologías similares reportan que Kale et al., 2007, obtuvieron un porcentaje de biodegradación en PLA del 80% en una prueba de 60 días, Lovino et al., 2008, obtuvieron un porcentaje de biodegradación de 87% en 90 días prueba realizada a

polímeros basados en almidón, y Du et al., 2008, reportaron un porcentaje de biodegradación del 70% también para materiales basados en almidón.

Por otro lado, otros estudios como el de García-Depraect et al., 2022, en donde se analizó la biodegradación aerobia con el estándar ISO 14852, los resultados mostraron que después de 117 días el porcentaje de biodegradación de los plásticos a base de PHB, PHBV y PCL fueron 79.6%, 84.5% y 75.7% respectivamente, por otro lado, el porcentaje de biodegradación de PBS, PBAT, PLA y una mezcla de PLA-PCL fue menor del 10%, para este estudio también se reportó una biodegradación de la celulosa microcristalina mayor al 70% (86.8%), resultados que igualmente contrastan con el porcentaje de biodegradabilidad reportado por Dammak et al., 2020 para PBAT, y que concuerdan con Tabasi y Ajji, 2015, para PBAT y con Ahn et al., 2011, para PLA.

Como puede observarse en todos los estudios citados, las proporciones de cada polímero en las distintas mezclas, así como la metodología que se use para fabricarlos pueden influir en su porcentaje de biodegradación final; lo cual es coherente y una posible respuesta a los distintos porcentajes de biodegradación obtenidos en el presente estudio. En concordancia con esto Abe et al., 2021, reporta que las mezclas en una matriz bioplástica polimérica influyen en la biodegradación (aumentando o reduciendo la biodegradación), ya que los diferentes componentes de los materiales plásticos pueden influir en la accesibilidad de las enzimas al material polimérico en diferentes formas. De igual forma, es importante mencionar que es difícil que la biodegradación de algunos polímeros naturales biodegradables llegue al 100% en pocos meses ya que se ha reportado que esta puede tardar más tiempo dependiendo las condiciones, por ejemplo, en algunos estudios se ha observado que el almidón aunque es un polímero 100% biodegradable su biodegradación total puede tardar hasta 1 año, así mismo, la biodegradabilidad de algunos polímeros no llega al 100% debido a que estos pueden ser utilizados para la síntesis de polisacáridos necesarios para los microorganismos lo que evita su mineralización total (mineralización parcial), siendo esto el caso del almidón, un componente de las bolsas compostables evaluadas en el presente trabajo (Polman et al., 2021).

Sumado a lo anterior, y en relación con las distintas proporciones de polímeros usados para producción de bolsas compostables probadas en este estudio, German et al., 2011, reportó que la tasa de biodegradación del almidón depende de la concentración, y que esta puede disminuir hasta un 50 % cuando el almidón presente es <10 % de la materia orgánica del suelo. Esta reducción en la biodegradación se atribuye a una disminución en la actividad enzimática, pues los costos energéticos

para que los microorganismos produzcan enzimas extracelulares son demasiado altos en comparación con el rendimiento de energía metabólica cuando hay poco almidón disponible. Este fenómeno más la evidencia de que el almidón en mezcla con otros polímeros biodegradables como el PLA y PBAT ayuda a la fragmentación y biodegradación de estos últimos (Gattin et al., 2002) puede estar relacionado con los resultados obtenidos siendo el contenido de almidón en cada bolsa un factor importante.

De igual forma, puede mencionarse que parece existir una influencia del método que se ocupa para determinar el porcentaje de biodegradación con el porcentaje de degradación final, así como las características fisicoquímicas que cada polímero presenta como se observó en el trabajo de García-Depraect et al., 2022.

De acuerdo con Polman et al., 2021 y Kale et al., 2007, existen distintos factores que afectan los procesos de biodegradación, entre los principales para el ambiente de exposición se encuentran el porcentaje de humedad, el cual es necesario para que se propicie un ambiente para el desarrollo de los microorganismos encargados de la biodegradación, y para que se lleve el proceso de hidrolisis en algunos polímeros, por ejemplo, el PLA en el cual se ha reportado la hidrolisis como primer paso para su de biodegradación, baja disponibilidad de agua se ve reflejada en disminución de biodegradación. Así mismo la acides del medio tiene gran influencia en el proceso debido a que puede alterar el hidrolisis de polímeros y el crecimiento de microorganismos. De igual forma la temperatura tiene un papel muy importante debido a que es necesaria para el desarrollo y mantenimiento de los microorganismos, se ha demostrado que a mayor temperatura la tasa de biodegradación aumenta, sin embargo, temperaturas muy elevadas detiene el proceso debido a que son eliminadas las bacterias y hongos del medio. Y finalmente el contenido de oxígeno en el medio influye en las tasas de biodegradación, algunos estudios han demostrado que la generación de CO₂ en la biodegradación es mayor en condiciones aerobias (presencia de oxígeno igual o mayor al 6%) que en condiciones anaerobias. Es importante mencionar que los procesos de biodegradación más importantes de los biopolímeros, son ejecutados por enzimas extracelulares que son excretadas por microorganismos, por lo cual es muy importante su presencia y mantenimiento en el medio y una concentración adecuada de sustrato.

Otros factores como la composición química influyen en la biodegradación de los plásticos a través de diferentes patrones de cristalinidad, carácter hidrofílico e hidrofóbico, flexibilidad conformacional, accesibilidad de polímeros, área de superficie, peso molecular, temperatura de fusión, enlaces hidrolizables y oxidables en cadenas de polímeros, morfología y estéreo-configuración influyen también

en el proceso de biodegradación (Abe et al., 2021). Moléculas poco flexibles reducen la accesibilidad al agua de la cadena polimérica influyendo esto negativamente en la tasa de biodegradación como ejemplo para el caso de la flexibilidad, y para el caso del peso molecular se sabe que un polímero con peso molecular alto presenta muy baja interacción con microorganismos que lo puedan biodegradar (Chandra y Rustgi, 1998).

Finalmente, para el caso de la composición química de los bioplásticos se pueden mencionar, en el caso del PBAT (Componente mayoritario de las bolsas compostables probadas) que al aumentar en su composición el ácido tereftalato arriba del 35% mejoran sus propiedades físicas, no obstante, la tasa de biodegradación se ve afectada significativamente de forma negativa (Jian et al., 2020). La evaluación de la composición química a este grado no fue llevada a cabo en el presente trabajo, sin embargo, se discute debido a que este también podría ser un factor que influyó en los resultados obtenidos.

8.2.3. Ecotoxicidad

Los resultados obtenidos acerca del porcentaje de viabilidad de semillas que fueron usadas para la prueba de fitotoxicidad se muestran en la tabla 20, así mismo, en la figura 41 se muestran imágenes de las semillas germinadas.

Tabla 20. Porcentaje de germinación mostrado por *H. vulgare* y *C. dactylon* en la prueba de viabilidad de semillas

	Repeticiones	No germinadas	Germinadas	% de germinación
<i>Hordeum vulgare</i>	1	2	18	90
	2	2	18	90
	3	0	20	100
	4	1	19	95
	5	1	19	95
	Promedio			94
<i>Cynodon dactylon</i>	1	2	18	90
	2	2	18	90
	3	2	18	90
	4	4	16	80
	5	1	19	95
	Promedio			89



Figura 41. Germinación de semillas de *H. vulgare* y *C. dactylon* en la prueba de viabilidad

Como puede observarse las semillas de ambas especies cumplen con los requisitos para ser usadas en la prueba de ecotoxicidad, pues de acuerdo con la norma NMX-E273-NYCE-2019, la germinación de las semillas en esta prueba debe ser mínimo del 70%.

Por otro lado, los resultados obtenidos sobre la sobrevivencia, tamaño de raíces, tamaño tallos (parte área), biomasa húmeda y biomasa seca de las especies vegetales (*H. vulgare* y *C. dactylon*) probadas se muestran en las tablas 21 y 22.

Es importante mencionar que para las plantas de cebada (*H. vulgare*) se obtuvo una germinación del 100% en todos los tratamientos y grupos control, de igual forma, la sobrevivencia de las plantas tras los 21 días de cultivo fue del 100%, por tanto, estas tablas no fueron colocadas. De igual forma, no se observaron diferencias significativas, lo que indica que los plásticos que componen las distintas bolsas compostables no presentan un efecto fitotóxico en las plantas de cebada.

Para el caso del pasto (*C. dactylon*) la norma NMX-E273-NYCE-2019 no solicita conteo de germinación pues se agregan 0.5 g de semillas (aproximadamente 60 semillas), tampoco se requiere de un conteo de supervivencia ya que esto se evalúa con las mediciones de biomasa.

Tabla 21. Resultados de las mediciones realizadas a tallos, raíces y biomasa de las plantas de *H. vulgare* cultivadas en composta con distintos plásticos compostables y arena de sílice (mezcla 50/50)

Repetición	Tallo (cm)	Raíz (cm)	Total (cm)	Biomasa húmeda (g)	Biomasa seca (g)
EA1	29.40	9.80	39.20	0.61	0.07
EA2	23.27	11.53	34.80	0.44	0.05
EA3	29.27	12.13	41.40	0.72	0.07
Promedio	27.31	11.16	38.47	0.59	0.06
EH1	26.10	14.70	40.80	0.47	0.05
EH2	31.80	10.13	41.93	0.55	0.08
EH3	29.37	13.37	42.73	0.58	0.06
Promedio	29.09	12.73	41.82	0.53	0.06
WC1	31.97	14.37	46.33	0.53	0.07
WC2	27.27	13.93	41.20	0.56	0.09
WC3	25.90	11.20	37.10	0.53	0.06
Promedio	28.38	13.17	41.54	0.54	0.07
C-1	26.50	10.67	37.17	0.63	0.08
C-2	26.87	16.47	43.33	0.63	0.09
C-3	30.37	14.60	44.97	0.56	0.07
Promedio	27.91	13.91	41.82	0.61	0.08
C+1	26.23	15.23	41.47	0.59	0.07
C+2	29.10	14.43	43.53	0.75	0.10
C+3	28.43	13.33	41.77	0.76	0.08
Promedio	27.92	14.33	42.26	0.70	0.08

EH bolsa compostable, WC bolsa compostable, EA bolsa compostable, C+ composta con celulosa microcristalina, C- composta sola.

Como puede observarse en la tabla 21, las plantas de cebada cultivadas en composta con bolsa EH obtuvieron en promedio la mayor longitud de tallo (largo de hojas), seguido del tratamiento WC, control negativo y positivo (C-, C+) y finalmente el tratamiento EA. No obstante, los valores entre todos los tratamientos son muy similares. Al realizar el análisis de varianza se obtuvo una F de 0.17 siendo menor que el valor $\alpha_{0.05}$ igual a 3.48 indicando que no existen diferencias significativas entre la longitud de los tallos de las plantas cultivadas en composta con plásticos compostables y los grupos control, dicho

resultado sugiere que no existe un efecto fitotóxico de los plásticos compostable probados sobre la planta para el desarrollo de hojas.

De acuerdo con los resultados mostrados en la tabla 29, las plantas de cebada cultivadas en la composta control positivo (C+) obtuvieron en promedio la mayor longitud de raíces, seguido del grupo control negativo (C-), tratamiento WC, tratamiento EH y finalmente el tratamiento EA. No obstante, como en los resultados de partes aéreas tallo/hojas los valores entre todos los tratamientos son muy similares, y al realizar el análisis de varianza se obtuvo una F de 1.16 siendo menor que el valor $\alpha_{0.05}$ igual a 3.48 indicando que no existen diferencias significativas entre la longitud de las raíces de las plantas cultivadas en composta con plásticos compostables y los grupos control, dicho resultado sugiere que no existe un efecto fitotóxico de los plásticos compostable probados sobre la planta para el desarrollo de raíces.

Como puede observarse en la tabla 21, las plantas de cebada cultivadas en la composta control positivo (C+) obtuvieron en promedio la mayor cantidad de biomasa húmeda, seguido del grupo control negativo (C-), tratamiento EA, tratamiento WC y finalmente el tratamiento EH. De igual forma como en los resultados de tallos y raíces los valores registrados son muy similares entre tratamientos, y al realizar el análisis de varianza se obtuvo una F de 2.06 siendo este menor que el valor $\alpha_{0.05}$ igual a 3.48 indicando que no existen diferencias significativas entre la biomasa húmeda de las plantas cultivadas en composta con plásticos compostables y los grupos control. Dicho resultado sugiere que no existe un efecto fitotóxico de los plásticos compostable probados sobre la planta para la acumulación de biomasa y agua, siendo esto un reflejo de la sobrevivencia total de las plantas durante la prueba.

Finalmente, como puede observarse en la tabla 21, las plantas de cebada cultivadas en la composta control positivo (C+) obtuvieron en promedio la mayor cantidad de biomasa seca, seguido del grupo control negativo (C-), tratamiento WC, tratamiento EA y finalmente el tratamiento EH. De igual forma, como en los resultados anteriores presentados para esta especie vegetal, se observa que los valores registrados son muy similares entre todos los tratamientos, y al realizar el análisis de varianza se obtuvo una F de 2.03 siendo este menor que el valor $\alpha_{0.05}$ igual a 3.48 indicando que no existen diferencias significativas entre la biomasa seca de las plantas cultivadas en composta con plásticos compostables y los grupos control, este resultado como todos los demás, sugieren que no existe un efecto fitotóxico de los plásticos compostable probados sobre la planta para la acumulación de biomasa.

Tabla 22. Resultados de las mediciones realizadas a tallos, raíces y biomasa de las plantas de *C. dactylon* cultivadas en composta con distintos plásticos compostables y arena de sílice (mezcla 50/50)

Repeticiones	Tallo (cm)	Raíz (cm)	Total (cm)	Biomasa húmeda (g)	Biomasa seca (g)
EA1	15.60	2.70	18.30	3.23	0.52
EA2	15.50	2.60	18.10	3.03	0.40
EA3	16.40	2.90	19.30	3.15	0.33
Promedio	15.83	2.73	18.57	3.14	0.42
EH1	16.40	2.60	19.00	3.34	0.43
EH2	15.50	2.60	18.10	3.16	0.42
EH3	16.30	2.70	19.00	3.35	0.39
Promedio	16.07	2.63	18.70	3.28	0.41
WC1	15.90	2.70	18.60	3.25	0.35
WC2	15.80	2.60	18.40	3.01	0.39
WC3	15.90	2.50	18.40	3.30	0.40
Promedio	15.87	2.60	18.47	3.19	0.38
C-1	16.50	2.90	19.40	3.17	0.38
C-2	16.20	2.80	19.00	3.31	0.44
C-3	17.10	3.00	20.10	3.50	0.43
Promedio	16.60	2.90	19.50	3.33	0.42
C+1	16.10	2.70	18.80	3.45	0.40
C+2	15.50	2.60	18.10	3.24	0.43
C+3	16.30	2.90	19.20	3.41	0.42
Promedio	15.97	2.73	18.70	3.37	0.42

EH bolsa compostable, WC bolsa compostable, EA bolsa compostable, C+ composta con celulosa microcristalina, C- composta sola.

Como puede observarse en la tabla 22, el pasto cultivado en la composta del grupo control negativo (C-) obtuvo en promedio la mayor longitud de tallo (largo de hojas), seguido del tratamiento EH, después el grupo control positivo (C+), el tratamiento WC y finalmente el tratamiento EA. No obstante, los valores entre todos los tratamientos son muy similares nuevamente, y al realizar el análisis de varianza se obtuvo una F de 1.67 siendo menor que el valor $\alpha_{0.05}$ igual a 3.48 indicando que no existen diferencias significativas entre la longitud de los tallos/hojas del pasto cultivado en composta con plásticos

compostables y los grupos control. De igual forma como en las plantas de cebada los resultados sugieren que no existe un efecto fitotóxico de los plásticos compostable probados sobre el pasto para el desarrollo de hojas.

De acuerdo con los resultados mostrados en la tabla 22, el pasto cultivado en la composta del grupo control negativo (C-) obtuvo en promedio la mayor longitud de raíces, seguido del pasto del grupo control positivo (C+) y el tratamiento EA, después el tratamiento EH, y finalmente el tratamiento WC. Al igual que en los resultados mostrados anteriormente, se observa que no existe mucha diferencia entre todos los tratamientos y los grupos controles, y al realizar el análisis de varianza se obtuvo una F de 2.93 siendo menor que el valor $\alpha_{0.05}$ igual a 3.48 indicando que no existen diferencias significativas entre la longitud de las raíces del pasto cultivado en composta con plásticos compostables y los grupos control, lo que sugiere que no existe efecto fitotóxico de los plásticos sobre el crecimiento de raíces.

Como se puede observar en los resultados mostrados en la tabla 22, el pasto cultivado en la composta del grupo control positivo (C+) obtuvo en promedio la mayor acumulación de biomasa húmeda, seguido del pasto del grupo control negativo (C-), el tratamiento EH, después el tratamiento WC, y finalmente el tratamiento EA. Al realizar el análisis de varianza se obtuvo una F de 1.62 siendo menor que el valor $\alpha_{0.05}$ igual a 3.48 indicando que no existen diferencias significativas entre la biomasa húmeda acumulada por el pasto cultivado en composta con plásticos compostables y los grupos control, dicho resultado sugiere que no existe efecto fitotóxico de los plásticos sobre el desarrollo y acumulación de agua en la especie de pasto probada.

Finalmente, de acuerdo con los resultados mostrados en la tabla 22, el pasto cultivado en la composta del grupo control positivo (C+), control negativo (C-) y tratamiento EH mostraron los valores más altos de acumulación de biomasa seca, seguidos del tratamiento EA y finalmente el tratamiento WC. Pueden observarse que son valores muy similares en todos los tratamientos, y al realizarse el análisis de varianza se obtuvo una F de 0.33 siendo menor que el valor $\alpha_{0.05}$ igual a 3.48 indicando que no existen diferencias significativas entre la biomasa seca acumulada por el pasto cultivado en composta con plásticos compostables y los grupos control, dicho resultado sugiere que no existe efecto fitotóxico de los plásticos sobre el desarrollo y fijación de carbono en la especie de pasto probada.

Como pudo observarse en los resultados mostrados, no existió diferencia significativa entre las medias de los distintos tratamientos y grupos control en ninguno de los parámetros evaluados para la

determinación de fitotoxicidad de los plásticos compostables sobre las especies vegetales probadas, por esta razón no fue necesario llevar a cabo la prueba LSD.

Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con los reportados por Palsikowski et al., 2018, quienes evaluaron la fitotoxicidad del PBAT, PLA y mezclas ambos polímeros sobre cebolla común (*Allium cepa*), dichos autores no observaron efecto toxico de los polímeros sobre las plantas de cebolla. De igual forma Rudeekit et al., 2012, evaluaron la fitotoxicidad del PLA, y mezclas de PLA y almidón de maíz sobre plantas de arroz (*Oryza sativa*) y frijol mungo (*Vigna radiate*), en este estudio tampoco se reportaron diferencias significativas entre controles y tratamientos, lo que indica que no existió efecto tóxico de los polímeros sobre las plantas probadas.

Greene, 2007, evaluó la fitotoxicidad de PLA, y mezclas de PLA y almidón sobre la planta de tomate (*Physalis ixocarpa*) reportando que no existieron diferencias significativas en los grupos control y los tratamientos. Así mismo, utilizando la misma especie vegetal (*Physalis ixocarpa*) Álvarez et al., 2012, reportaron que no existió efecto fitotóxico del PLA sobre las plantas probadas. Por otro lado, Liwarska-Bizukojc, 2022, evaluó la fitotoxicidad de PLA producido por diferentes empresas sobre Sorgo (*Sorghum saccharatum*) y Berro hortelano (*Lepidium sativum*), en dicho estudio tampoco se encontraron diferencias significativas entre el impacto de los plásticos sobre la germinación y desarrollo de las plantas entre los tratamientos y los controles, concluyendo que no existe efecto tóxico con estos plásticos.

Finalmente, en los resultados reportados por Barbale et al., 2021, al evaluar el efecto fitotóxico del polímero Mater Bi (Poliéster, almidón de maíz y plastificante) sobre plantas de Berro (*Nasturtium officinale*) y cebada (*Hordeum vulgare*), no fueron observados efectos tóxicos sobre estas especies (no se reportaron diferencias significativas). Por su parte, Gómez, 2015, realizó pruebas de fitotoxicidad probando composta con PBAT y PLA sobre lechuga (*Lactuca sativa*), sus resultados mostraron que no existió efecto fitotóxico. Como puede observarse en los estudios antes citados los polímeros PLA, PBAT y almidón de maíz (contenidos en las bolsas compostables utilizadas en la prueba) no muestran fitotoxicidad sobre las distintas especies vegetales probadas, lo cual fue corroborado en el presentes estudio. Los resultados obtenidos indican que las bolsas compostables probadas en el presente trabajo cumplen con este requisito solicitado por la norma NMX-E273-NYCE-2019, pues no fueron observadas afectaciones en germinación, longitud de la parte área de las plantas y raíces, ni en la acumulación de biomasa.

8.3. Análisis de composición química de bolsas

8.3.1. Análisis de polímeros mediante espectrometría de infrarrojo (IR-ATR)

En las figuras 42, 43 y 44 se muestran los espectros infrarrojos obtenidos de las distintas bolsas compostables probadas, y en la tabla 23 se realiza una clasificación de los distintos picos encontrados en cada bolsa.

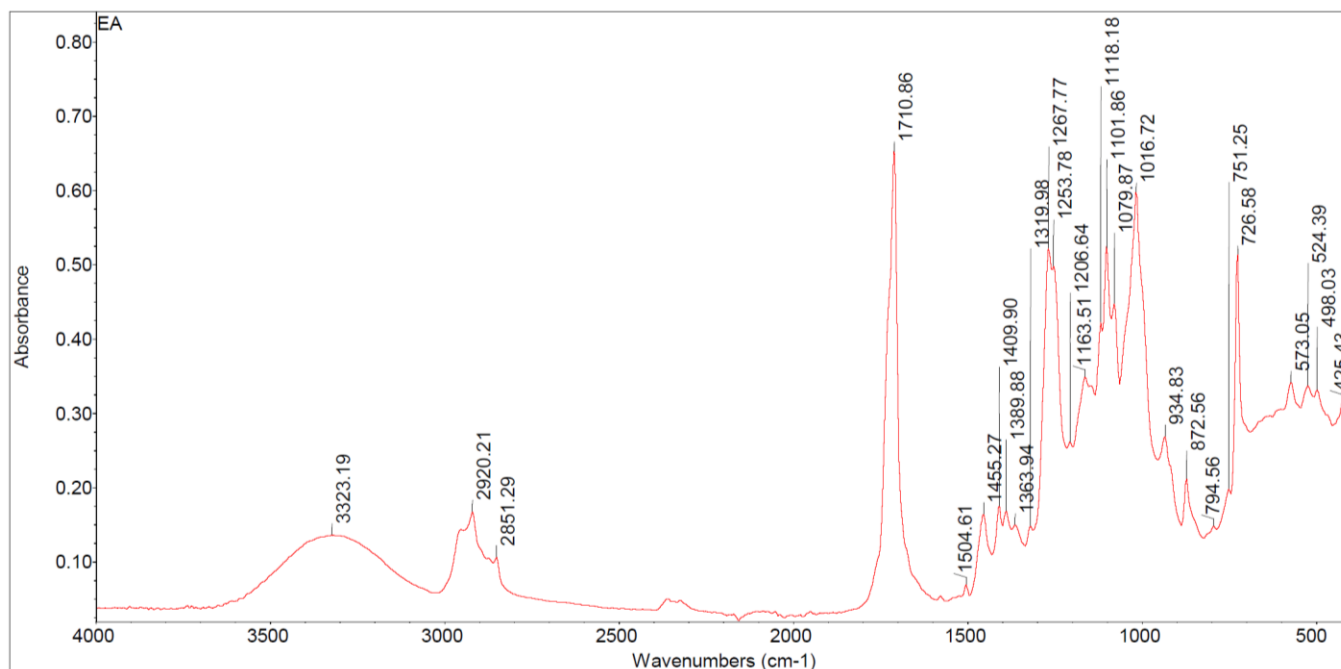


Figura 42. Espectro Infrarrojo (absorbancia) de la bolsa EA, pueden observarse los picos representativos del espectro

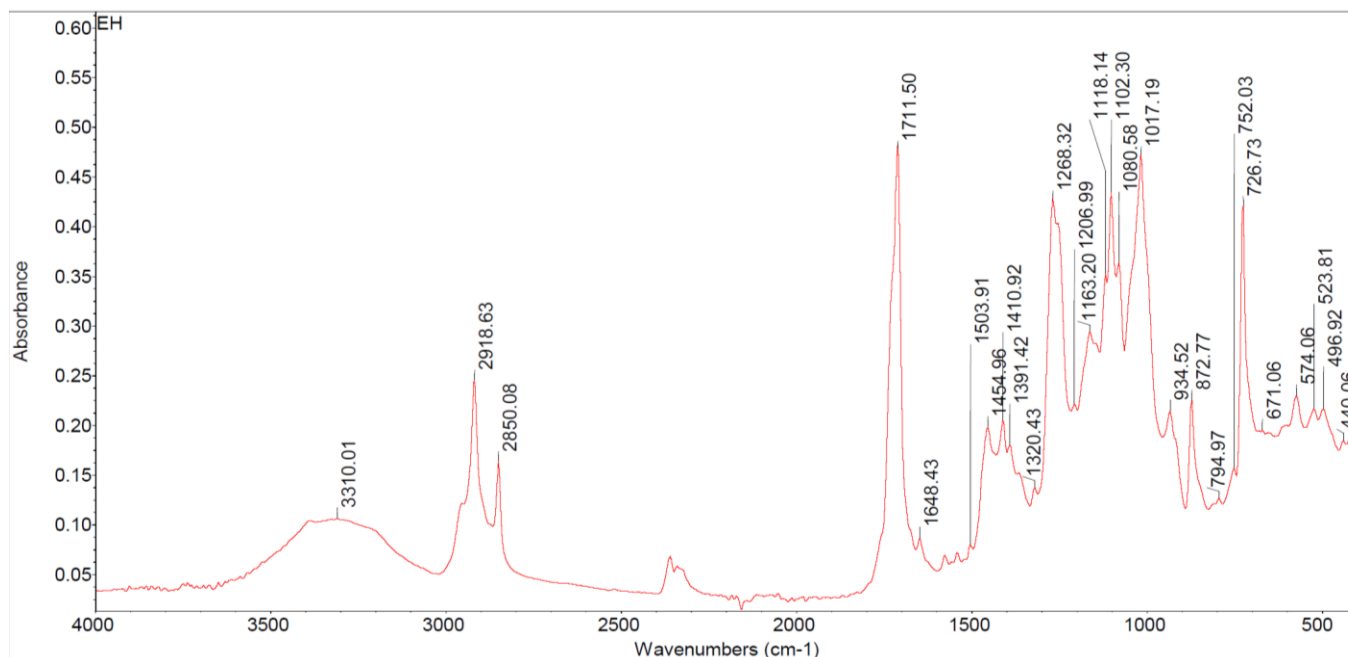


Figura 43. Espectro Infrarrojo (absorbancia) de la bolsa EH, pueden observarse los picos representativos del espectro

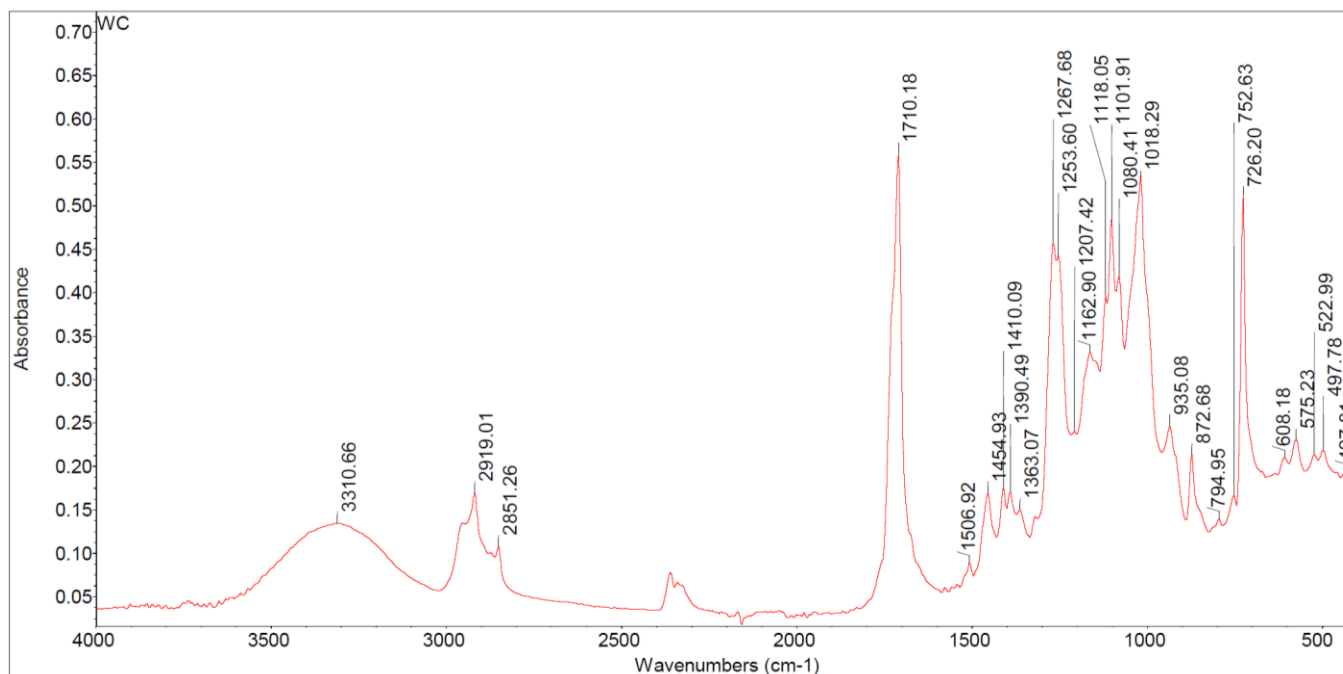


Figura 44. Espectro Infrarrojo (absorbancia) de la bolsa WC, pueden observarse los picos representativos del espectro

Tabla 23. Comparación de los picos del espectro IR encontrados en las distintas bolsas

Región (cm-1)	Bolsas compostables					
	EA		EH		WC	
	Pico	Intensidad	Pico	Intensidad	Pico	Intensidad
3500-2000	3323.19	0.136	3310.01	0.106	3310.66	0.134
	2920.21	0.168	2918.63	0.248	2919.01	0.17
	2851.29	0.107	2850.08	0.164	2851.26	0.109
1700-1500	1710.86	0.66	1711.5	0.484	1710.18	0.568
	-	-	1648.43	0.0868	-	-
	1504.61	0.0692	1503.91	0.0803	1506.92	0.0894
1500-1000	1455.27	0.165	1454.96	0.198	1454.93	0.169
	1409.9	0.177	1410.92	0.206	1410.09	0.176
	1389.88	0.169	1391.42	0.18	1390.49	0.17
	1363.94	0.15	1365.75	0.152	1363.07	0.15
	1319.98	0.148	1320.43	0.137	1318.87	0.142
	1267.77	0.524	1268.32	0.429	1267.68	0.459
	1253.78	0.498	1254.77	0.404	1253.6	0.443
	1206.64	0.261	1206.99	0.222	1207.42	0.24
	1163.51	0.35	1163.2	0.294	1162.9	0.332
	1118.18	0.423	1118.14	0.352	1118.05	0.397
	1101.86	0.528	1102.3	0.436	1101.91	0.487
	1079.87	0.447	1080.58	0.364	1080.41	0.42
	1016.72	0.601	1017.19	0.473	1018.29	0.536
	934.83	0.269	934.52	0.214	935.08	0.246
1000-0	872.56	0.213	872.77	0.227	872.68	0.215
	794.56	0.148	794.97	0.126	794.95	0.139
	751.25	0.198	752.03	0.157	752.63	0.167
	726.58	0.525	726.73	0.43	726.2	0.52
	-	-	671.06	0.195	-	-
	-	-	-	-	608.18	0.21
	573.05	0.342	574.06	0.23	575.23	0.231
	524.39	0.337	523.81	0.217	522.99	0.213
	498.03	0.331	496.92	0.216	497.78	0.218
	-	-	440.06	0.185	-	-
	425.43	0.315	-	-	427.81	0.193
	-	-	418.42	0.189	-	-
407.71	0.314	-	-	407.59	0.2	

EH bolsa compostable, WC bolsa compostable, EA bolsa compostable.

Como puede observarse en la tabla 23, los espectros infrarrojos de las 3 bolsas probadas son muy similar entre sí, solo algunos picos pequeños las hacen ligeramente diferentes, no obstante, los picos

más altos y representativos se observan en todas, dichos resultados sugieren que las 3 bolsas compostable contienen los mismos polímeros. De igual forma es importante mencionar que, aunque los picos representativos se encuentran en todos los espectros, su tamaño difiere, lo que indica que el contenido porcentual de cada polímero difiere en las bolsas, información que concuerda con los datos técnicos que se obtuvieron previamente.

Como puede observarse en los espectros de todas las bolsas se encuentra un pico en la región 2800-3000 cm^{-1} (2919 cm^{-1} en promedio) siendo característica del grupo metilo CH_3 o CH_2 , lo cual se reafirma ya que se observan picos entre la región 1475-1445 cm^{-1} (1455 cm^{-1} en promedio) y es posible que existan cadenas de mínimo cuatro CH_2 pues se muestra un pico entre 730-710 cm^{-1} , así mismo, se encuentra un pico muy importante entre 1700-1725 cm^{-1} (1711 cm^{-1} en promedio) la cual es característica del grupo carbonilo. Dichos grupos funcionales se encuentran en la estructura molecular del PBAT, PLA, y almidón de maíz lo que sugiere que si están presentes en las bolsas compostables evaluadas.

De acuerdo con de Matos Costa et al., 2020, quienes evaluaron mediante espectrometría FTIR el polímero PBAT obteniendo un espectro que mostraba picos en 2960 y 2873 cm^{-1} los cuales se asocian a las vibraciones de los grupos CH_2 , también fue detectado en la región 1700 y 1740 cm^{-1} un pico sobresaliente correspondiente a grupo carbonilo presente en la molécula, los picos encontrados por los autores en esta región estuvieron en 1732 y 1715 cm^{-1} . También fueron detectados picos en 1459 cm^{-1} característicos del grupo fenileno, en 1410 y 1390 cm^{-1} correspondieron a vibraciones de flexión del plano trans- CH_2 , y en 1268 cm^{-1} se asociaron a vibraciones de C-O. De igual forma, fueron observados picos en 873 y 727 cm^{-1} relacionados con el grupo fenileno nuevamente. Finalmente, se también detectaron picos en 1172 cm^{-1} y 1110 cm^{-1} asociados al estiramiento simétrico del enlace C-O para las fracciones de adipato y tereftalato, respectivamente.

Por otro lado, Weng et al., 2013, reportó el espectro infrarrojo para PBAT encontrado picos en 2957 cm^{-1} , 1717 cm^{-1} , y 1504 cm^{-1} , 1409 cm^{-1} , 1395 cm^{-1} , 1271 cm^{-1} , 1104 cm^{-1} , 1019 cm^{-1} , 955 cm^{-1} y 731 cm^{-1} . Este mismo autor reportó el espectro infrarrojo la mezcla de PBAT 40/ PLA 60 informado que los picos característicos de cada polímero de forma pura aparecían en la mezcla complementándose. Y finalmente, Jiang et al., 2020, reportaron que los picos característicos de PBAT se pueden observar en 1710 cm^{-1} y 1268 cm^{-1} . Como puede observarse en la tabla 23 los picos 1710-1711 cm^{-1} , 1504-1506 cm^{-1} , 1455 cm^{-1} , 1409-1410 cm^{-1} , 1390 cm^{-1} , 1266-1268 cm^{-1} , 1101-1102 cm^{-1} , 1016-1018 cm^{-1} , 872-873

cm^{-1} , $726\text{-}727\text{ cm}^{-1}$ fueron detectados en los espectros de las 3 bolsas compostables evaluadas en el presente estudio, lo que confirma que estas contienen el polímero PBAT.

Para el caso del PLA Alfei et al., 2021 y Montañez et al., 2014, reportaron que los grupos funcionales O-H, C-H, C=O, CH_3 , C-C, C-O, característicos de este polímero se ubican en los picos 3510 cm^{-1} , 3000 cm^{-1} , $1756\text{-}1747\text{ cm}^{-1}$, $1453\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$, 1425 cm^{-1} , 1381 cm^{-1} , 1190 cm^{-1} , 1160 cm^{-1} y 1086 cm^{-1} . Por su parte Weng et al., 2013, también reportaron el espectro para el PLA encontrado los siguientes picos: 3502 cm^{-1} representaban la vibración de estiramiento O-H. Los picos en las posiciones de 2995 cm^{-1} y 2945 cm^{-1} asociados a CH_3 , 1750 cm^{-1} asociado al grupo carbonilo, 1457 cm^{-1} representan la vibración de flexión antisimétrica CH_3 , 1386 cm^{-1} asociado a CH, los de 1186 cm^{-1} , 1083 cm^{-1} y 1045 cm^{-1} representan la vibración de estiramiento C-O-C. Los espectros a 869 cm^{-1} representan la absorción del (O-CH-CH₃) éster; y los de 757 cm^{-1} representan la absorción de vibración oscilante del α -metilo.

Leroy et al., 2017, reportaron los siguientes picos para PLA: 2998 cm^{-1} , 2947 cm^{-1} , 1756 cm^{-1} , 1456 cm^{-1} , 1385 cm^{-1} , 1359 cm^{-1} , 1210 cm^{-1} , 1181 cm^{-1} , 1129 cm^{-1} , 1088 cm^{-1} , 1044 cm^{-1} , 921 cm^{-1} , 871 cm^{-1} y 755 cm^{-1} . Paragkumar et al., 2006, reportaron para PLA los siguientes picos característicos 1750 cm^{-1} , 1080 cm^{-1} , 1450 cm^{-1} y 1043 cm^{-1} . Y finalmente, Yang et al., 2008, reporta que un pico característico del PLA se encuentra en 1756 cm^{-1} dicha situación indica que posiblemente este presente.

Como puede observarse en la tabla 23, algunos de los picos reportados para PLA fueron registrados en todas las bolsas compostables probadas en este estudio (1455 cm^{-1} , $1207\text{-}1207\text{ cm}^{-1}$, 1160 cm^{-1} , 1080 cm^{-1} , 873 cm^{-1} y 750 cm^{-1}), no obstante, no fue observado el pico $1750\text{-}1756\text{ cm}^{-1}$ el cual es característico de este polímero según los estudios citados, lo que podría indicar que no esté presente en ninguna bolsa. En relación con la situación anterior en el presente trabajo se obtuvo el espectro IR de PLA puro (Figura 45) con el cual también fueron comparados los espectros de las bolsas probadas.

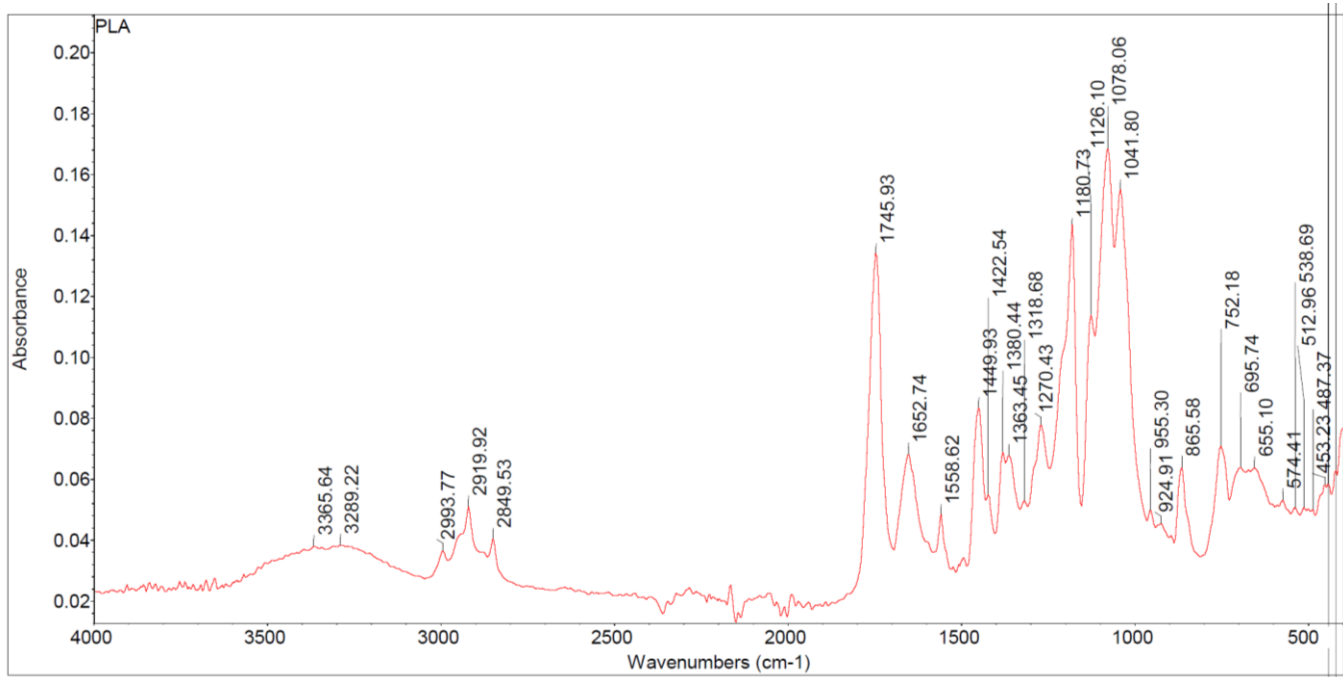


Figura 45. Espectro Infrarrojo (absorbancia) de PLA puro, pueden observarse los picos representativos del espectro

En la figura 45 puede observarse que están presentes los picos mencionados por los distintos autores citados y haciendo énfasis en el pico 1745.93 cm^{-1} , representativo del PLA. De igual forma, logran observarse un pico en 2919.92 cm^{-1} y otro en 2849.53 cm^{-1} , estas señales también fueron detectadas en las tres bolsas probadas y las cuales también pueden ser un indicador de presencia de PLA las cuales no son reportadas comúnmente. De acuerdo con lo anterior, los resultados obtenidos podrían indicar que la presencia de PLA en las bolsas probadas es muy baja a casi inexistente, siendo esto coherente con la composición porcentual reportada en los datos técnicos de las bolsas obtenidos previamente, dichos datos indican un contenido de PLA que va del 15 al 5% del total de la bolsa.

Finalmente, de acuerdo con Abdullah et al., 2018 el espectro del almidón se encuentra entre $3600\text{-}3300 \text{ cm}^{-1}$ para los enlaces O-H, 2931 cm^{-1} para el enlace C-H, 1637 cm^{-1} para el enlace C-O asociado con grupo OH, 1458 cm^{-1} para la deformación simétrica del CH_2 , 1415 cm^{-1} para la tijera simétrica CH_2 , $1385\text{-}1375 \text{ cm}^{-1}$ para la flexión simétrica de C-H, 1149 cm^{-1} para la flexión asimétrica de C-O-C, $1200\text{-}800 \text{ cm}^{-1}$ para la flexión C-O, 920 cm^{-1} , 856 cm^{-1} y 758 cm^{-1} para la vibración del anillo de carbohidrato C-O-C. Los mismos autores obtuvieron el espectro infrarrojo del almidón de maíz reportando los

siguientes picos: 3348 cm^{-1} , 2929 cm^{-1} , 1647 cm^{-1} , 1437 cm^{-1} , 1415 cm^{-1} , 1381 cm^{-1} , 1157 cm^{-1} , 1082 cm^{-1} , 1016 cm^{-1} , 929 cm^{-1} , 860 cm^{-1} y 763 cm^{-1} .

Wang y Xie 2010, reportaron que en el espectro de almidón de maíz los picos representativos son 3387 cm^{-1} y 2930 cm^{-1} se atribuidos al estiramiento O-H y las vibraciones de estiramiento C-H, respectivamente. Y las bandas de 1159 cm^{-1} , 1084 cm^{-1} y 993 cm^{-1} se asocian al estiramiento C-O. Por su parte Orsini et al., 2021 reportaron para el espectro infrarrojo del almidón de maíz 3281 cm^{-1} , 2928 cm^{-1} , 1641 cm^{-1} , 1455 cm^{-1} , 1412 cm^{-1} , 1337 cm^{-1} , 1242 cm^{-1} , 1200 cm^{-1} , 1148 cm^{-1} , 1076 cm^{-1} , 925 cm^{-1} , 875 cm^{-1} , 759 cm^{-1} y 688 cm^{-1} . Y Kizil et al., 2002, reportaron 3740 cm^{-1} , 2933 cm^{-1} , 1642 cm^{-1} , 1163 cm^{-1} y 930 cm^{-1} , para el almidón de maíz.

Como puede observarse en la tabla 23, en todas las bolsas se encontraron picos que se pueden relacionar con la fécula de maíz como el 3310-3323 cm^{-1} , 1648.43 cm^{-1} únicamente para EH, 934-935 cm^{-1} , y algunos otros que también identifican a los otros polímeros pues cuentan con grupos funcionales similares. Los resultados obtenidos muestran que es posible que esté presente la fécula de maíz en todas las bolsas probadas, siendo esto coherente con la composición reportada por los fabricantes.

De igual forma es muy importante resaltar, que el polímero más fácilmente identificado fue el PBAT, dicho polímero se encuentra en mayor proporción en todas las bolsas de acuerdo con los datos técnicos.

8.3.2. Análisis de metales mediante espectrometría de masas (ICP-OES)

Los resultados obtenidos del análisis químico de metales en las bolsas compostables y su comparación con los límites máximos permitidos por la norma NOM-004-SEMARNAT-2002 se muestran en la tabla 24 y 25.

Tabla 24. Cantidad de metales obtenida (mg/kg) en cada muestra de las bolsas compostables evaluadas

Elemento	As	Cd	Co	Cr	Cu	Mo	Ni	Pb	Se	Zn
λ (nm)	188.98	226.502	228.615	267.716	324.754	202.032	231.604	220.353	196.026	213.857
LCP (mg/kg)	2.5	0.5	2.5	0.5	2.5	0.5	0.5	2.5	2.5	0.5
Muestra/Unidades	mg/kg									
EA1	<LCP	<LCP	<LCP	1.5	3.0	<LCP	1.0	<LCP	<LCP	55.5
EA2	<LCP	<LCP	<LCP	1.0	<LCP	<LCP	<LCP	<LCP	<LCP	38.0
EA3	<LCP	<LCP	<LCP	1.5	3.0	<LCP	1.0	<LCP	<LCP	56.5
Promedio	<2.50	<0.50	<2.50	1.3	2.8	<0.5	0.8	<2.5	<2.5	50.0
WC1	<LCP	<LCP	<LCP	7.5	47.0	1.0	9.0	<LCP	<LCP	9.0
WC2	<LCP	<LCP	<LCP	8.0	46.0	1.0	9.5	<LCP	<LCP	9.0
WC3	<LCP	<LCP	<LCP	7.5	46.5	1.0	8.5	<LCP	<LCP	9.0
Promedio	<2.50	<0.50	<2.50	7.7	46.5	1.0	9.0	<2.5	<2.5	9.0
EH1	<LCP	<LCP	<LCP	3.5	3.5	<LCP	1.0	11.0	<LCP	76.5
EH2	<LCP	<LCP	<LCP	3.0	3.0	<LCP	<LCP	8.5	<LCP	76.5
EH3	<LCP	<LCP	<LCP	3.0	<LCP	<LCP	<LCP	8.0	<LCP	77.0
Promedio	<2.50	<0.50	<2.50	3.2	3.0	<0.5	0.7	9.16	<2.5	76.6

EH bolsa compostable, WC bolsa compostable, EA bolsa compostable.

Tabla 25. Cantidad promedio (mg/kg) de metales detectados en las bolsas compostables evaluadas y su comparación con los LMP establecidos por la norma NOM-004-SEMARNAT-2002, la norma UNE EN 13432:2001 y la norma ASTM D 6400

Elemento	As	Cd	Co	Cr	Cu	Mo	Ni	Pb	Se	Zn
λ (nm)	188.98	226.502	228.615	267.716	324.754	202.032	231.604	220.353	196.026	213.857
	mg/kg									
LMP Excelente ¹	41.0	39.0	n/a	1200.0	1500.0	n/a	420.0	300.0	n/a	2800.0
LMP Bueno ¹	75.0	85.0	n/a	3000.0	4300.0	n/a	420.0	840.0	n/a	7500.0
LMP ²	5	0.5	n/a	50	50	1	25	50	n/a	150
LMP ³	20.5	19.5	n/a	n/a	750	n/a	210	150	50	1400
EA	2.5	0.5	2.5	1.3	2.8	0.5	0.8	2.5	2.5	50.0
WC	2.5	0.5	2.5	7.7	46.5	1.0	9.0	2.5	2.5	9.0
EH	2.5	0.5	2.5	3.2	3.0	0.5	0.7	9.2	2.5	76.6

¹NOM-004-SEMARNAT-2002, ²UNE EN 13432:2001, ³ASTM D 6400.

Como puede observarse en la tabla 24 y 25 ninguna de las bolsas compostables supera el límite máximo permitido de metales establecido por la NMX-E-273-NYCE-2019, la cual menciona que los

metales no deben exceder el 50 % de los límites establecidos por la norma oficial mexicana NOM-004-SEMARNAT-2002, de igual forma todas las bolsas cumplen con los LMP establecidos en la norma UNE EN 13432:2001. Es importante resaltar que la norma mexicana es más tolerante con el contenido de metales en las bolsas compostables.

Como ya fue mencionado anteriormente, la norma NMX-E-273-NYCE-2019 menciona que esta evaluación debe realizarse a la composta con plástico obtenida durante una prueba de desintegración o biodegradación, sin embargo, se consideró pertinente realizarlo a la bolsa directamente, pues realizar la trazabilidad de la cantidad de metales aportados por la bolsa compostable a la composta generada sería muy complejo, además con este análisis podrían estar adjudicándose una cantidad de metales a las bolsas compostables que no son propiamente de estas. Por lo anterior, se puede afirmar que las bolsas probadas en el presente estudio cumplen con el requisito de contenido de metales para bolsas compostables según la normatividad vigente.

Por otro lado, los resultados obtenidos también pueden indicar que existe una baja probabilidad de que las bolsas compostables probadas tenga un efecto tóxico en cuanto a metales se refiere sobre los organismos empleados en las pruebas de ecotoxicidad.

Asimismo, se puede observar en la tabla 25 que existieron diferencias entre algunos metales contenidos en cada bolsa. Para el caso del Zn se observa una cantidad muy variable entre las 3 bolsas pasando de 76.6 mg/kg en EH, 50 mg/kg en EA y 9 mg/kg en WC. En cuanto al Pb se observa un contenido de 9.2 mg/kg en la bolsa EH siendo el más alto en comparación con las otras dos bolsas. Y finalmente, en cuanto al Cu, el Ni y el Cr se observa que únicamente la bolsa WC tiene un contenido elevado en comparación con las otras 2 bolsas siendo este 46.5 mg/kg, 9 mg/kg y 7.7 mg/kg respectivamente. Es importante mencionar que, de acuerdo con Kaiser, 2001, el contenido más elevado de Cu, Ni y Co en las bolsas compostables en comparación con los otros metales se debe principalmente al uso de estos metales como pigmentos para dar tonalidades verdes, amarillos y azules a los polímeros durante la producción de la bolsa y como tinta para impresión sobre estas.

Lo anterior es coherente con los resultados obtenidos pues una característica de la bolsa WC es su coloración verde lo que explica los niveles más altos de estos metales en comparación con las otras bolsas.

En cuanto a los otros metales (Zn y Pb) las cantidades más altas pueden deberse principalmente a la calidad de los polímeros usados, al comparar la cantidad de estos metales con los de los otros autores no se observaron grandes diferencias en su contenido.

Por otro lado, al comparar los resultados obtenidos en el presente estudio con los reportados por Gómez, 2015, quien realizó una evaluación del contenido de metales en bolsas compostables fabricadas de PBAT y PLA encontrando las siguientes cantidades: Zn <10 mg/kg, Cu <2 mg/kg, Ni <2 mg/kg, Cd <2 mg/kg, Pb <10 mg/kg, Cr <2 mg/kg, As <2 mg/kg y Mo <0.25 mg/kg, se puede observar que existe coherencia con lo obtenido en el presente trabajo. De igual forma, Fernando de Fuetes, 2015, determinó el contenido de metales en una bolsa compostable fabricada con PBAT y almidón encontrando As <2 mg/kg, Cd <2 mg/kg, Co <2 mg/kg, Cr <2 mg/kg, Cu 8.59 mg/kg, Mo <0.25 mg/kg, Ni <2 mg/kg, Pb <10 mg/kg, Zn <10 mg/kg, siendo estos resultados similares a los mencionados anteriormente.

El estudio realizado por Huerta-Pujol et al., 2010, mostró cantidades muy bajas de metales siendo estas: Zn 16 mg/kg, Cu 20 mg/kg, Ni 1.2 mg/kg, Cr 2 mg/kg y Pb 8 mg/kg, al analizar 8 bolsas compostables diferentes fabricadas de PLA y fécula de maíz en su mayoría, y finalmente Kaiser, 2001, evaluó el contenido de metales en bolsas compostables fabricadas a base de almidón de maíz, encontrando cantidades muy bajas: Pb <2.1 mg/kg, Cd <0.2 mg/kg, Cr <2.1 mg/kg, Cu 19 mg/kg, Ni <4 mg/kg, Zn <5 mg/kg y Hg <0,10 mg/kg, todos los trabajos citados muestran resultados similares a los observados en la tabla 25.

8.4. Pruebas de consumo, biodegradación y ecotoxicidad empleando larvas de *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio*

8.4.1. Determinación del porcentaje de consumo de bolsas por la alimentación de larvas de *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio*

Los resultados obtenidos son presentados en las siguientes gráficas y tablas, primero se muestran los resultados obtenidos con la especie *Zophobas morio*, posteriormente son presentados los resultados con *Tenebrio molitor*.

Zophobas morio

En la figura 46, 47 y 48 y en la tabla 26, se muestran los resultados obtenidos del consumo de las distintas bolsas por *Z. morio*. Es importante mencionar que la cantidad inicial para las bolsas de plástico fue de 5 gramos y de 10 gramos para el grupo control, y que durante el tiempo del experimento una vez que se agotó el alimento no fue agregado más.

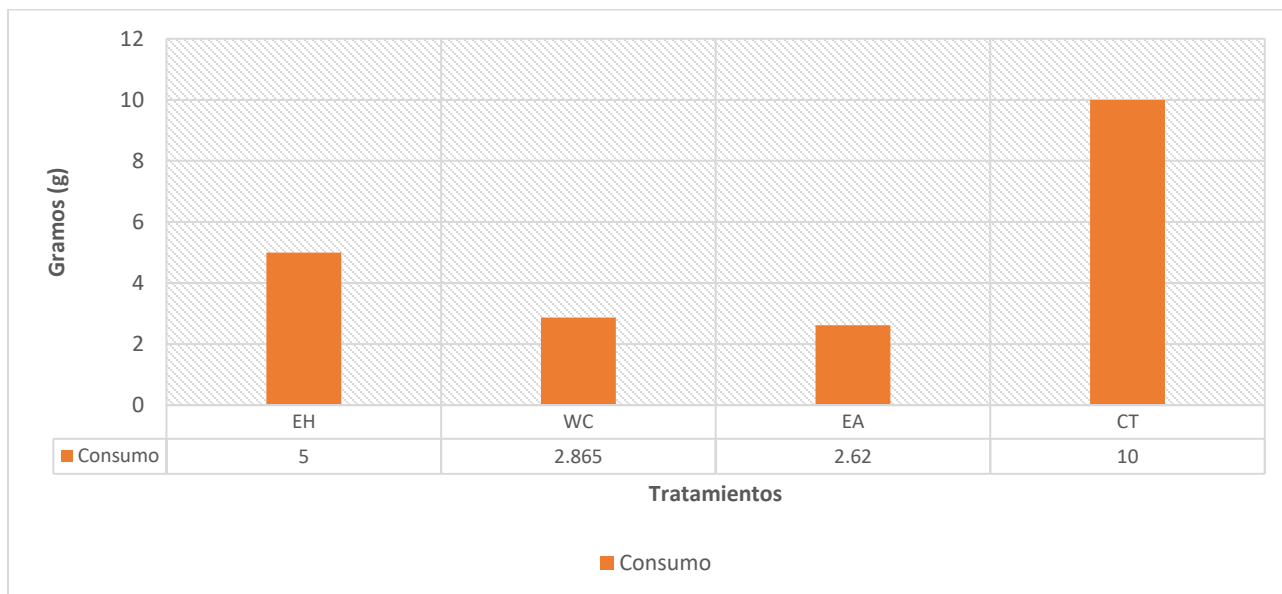


Figura 46. Promedio total en gramos de bolsas compostables y salvado de trigo consumido por las larvas de *Z. morio* al final de la prueba

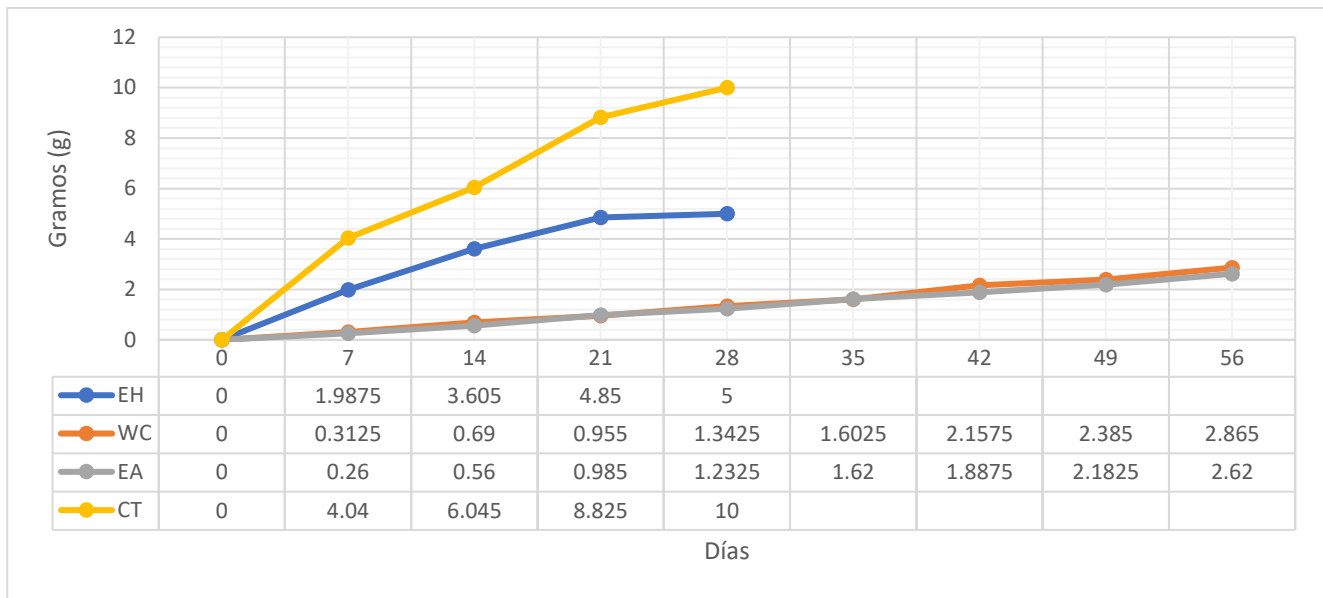


Figura 47. Promedio total en gramos de bolsas compostables y salvado de trigo consumido por las larvas de *Z. morio* con respecto al tiempo

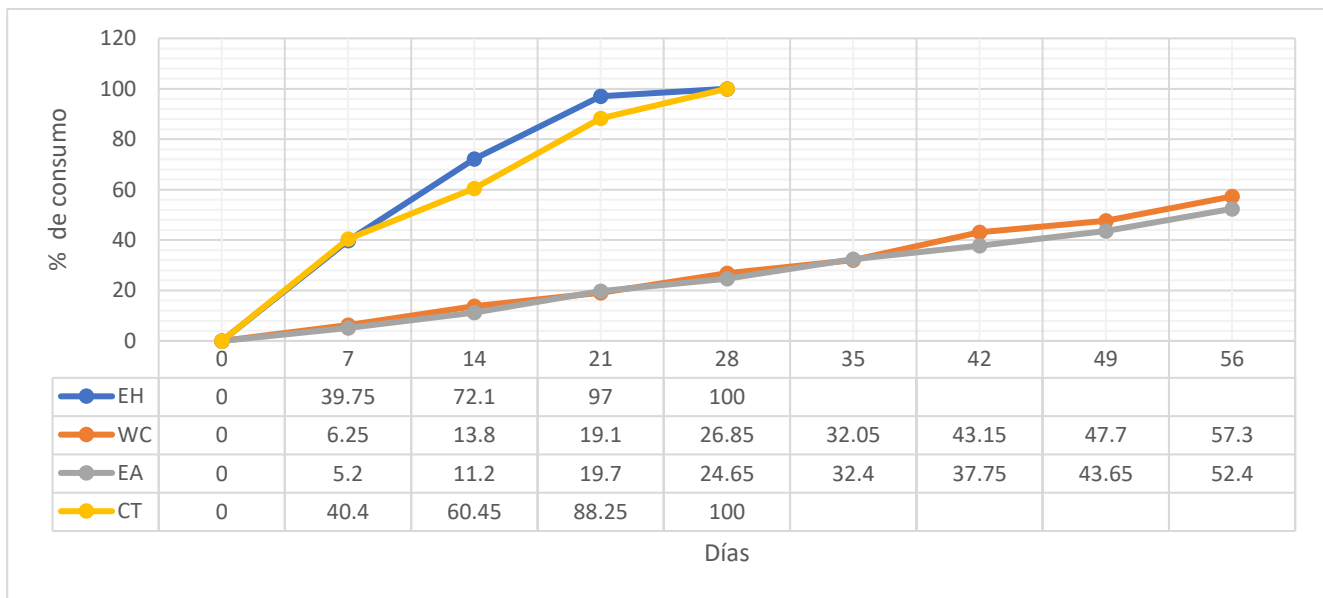


Figura 48. Promedio total en porcentaje de consumo de bolsas compostables y salvado de trigo consumido por las larvas de *Z. morio* con respecto al tiempo

Tabla 26. Comparación del porcentaje promedio de consumo y recuperación de plásticos compostables de cada tratamiento con *Z. morio*

Tratamiento	Peso Inicio (g)	Peso final (g)	% de recuperación	% de consumo	Tiempo (días)
EH	5	0	0%	100%	28
WC	5	2.135	42.7%	57.3%	56
EA	5	2.38	47.6%	52.4%	56
CT	10	0	0%	100%	28

De acuerdo con los resultados mostrados en la figura 46, 47 y 48, y en la tabla 26, se observa que el grupo control y el grupo EH consumieron el 100% del alimento proporcionado en 28 días, no obstante, es importante resaltar que al grupo control se le proporcionó el doble de alimento que, a todos tratamientos, por lo que se puede mencionar que si existen diferencias entre la tasa de consumo del salvado de trigo y la bolsa EH. De igual forma, el grupo EH muestra diferencias considerables con los grupos WC y EA, ya que el grupo EH consumió los 5 g en la mitad del tiempo que estos últimos. Los grupos WC y EA muestran un comportamiento similar siendo un poco mayor el consumo en el tratamiento WC.

Al realizar el análisis de varianza (ANOVA) se obtuvo una F de 28.79 siendo esta mayor al valor de F teórico $\alpha_{0.05}$ 3.49 lo que indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos. Posteriormente la prueba LSD mostro un valor de 15.097, indicando que existe diferencias significativas entre la media del grupo control (CT) y los grupos EA y WC, y también entre la media del grupo EH y los grupos EA y WC. Por otro lado, no se observaron diferencias significativas entre el grupo CT y EH, y entre los grupos EA y WC.

De acuerdo con anterior puede mencionar que la bolsa que tuvo mayor aceptación por las larvas fue la EH siendo consumida de forma similar al salvado de trigo (CT), las bolsas WC y EA tuvieron una menor aceptación, pero similar entre ellas, pudiendo estar relacionado con esto las características físicas y químicas de cada bolsa (densidad, espesor o calibre, composición porcentual de polímeros).

Tenebrio molitor

De igual forma, en la figura 49, 50, y 51 y en la tabla 27 se muestran los resultados obtenidos del consumo de las distintas bolsas por *T. molitor*. Para los tratamientos con esta especie igual que con *Z.*

morio solo se agregó una cantidad inicial de 5 g de bolsa compostable y de 10 gramos para el grupo control.

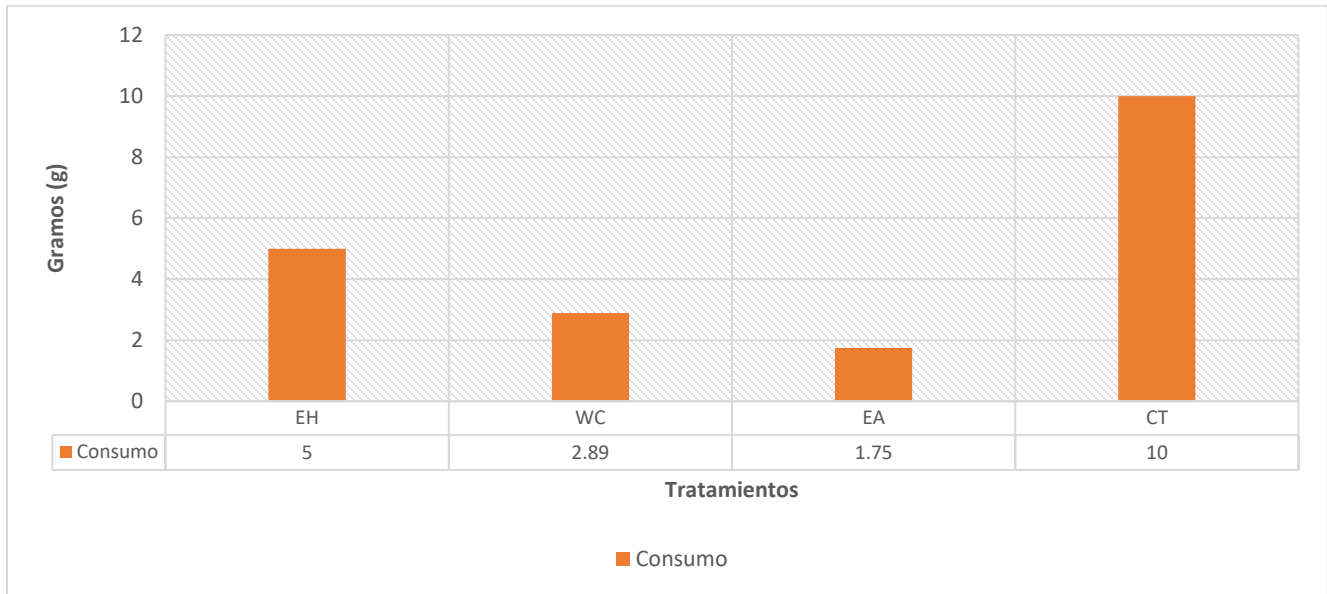


Figura 49. Promedio total en gramos de bolsas compostables y salvado de trigo consumido por las larvas de *T. molitor* al final de la prueba

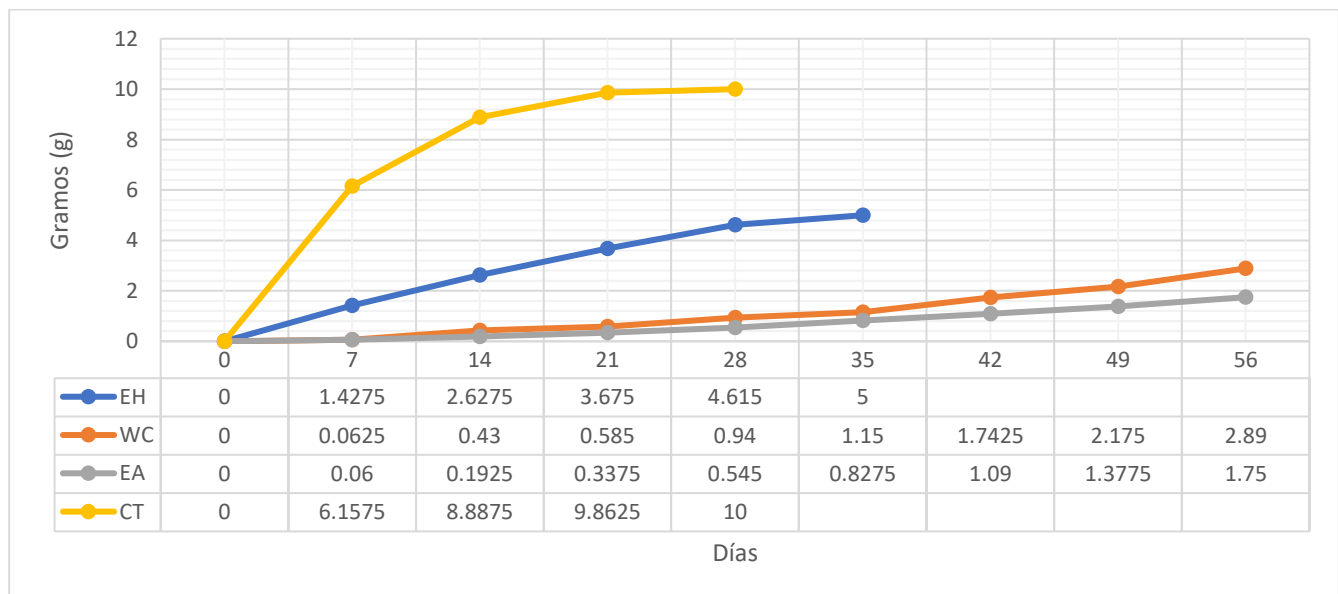


Figura 50. Promedio total en gramos de bolsas compostables y salvado de trigo consumido por las larvas de *T. molitor* con respecto al tiempo

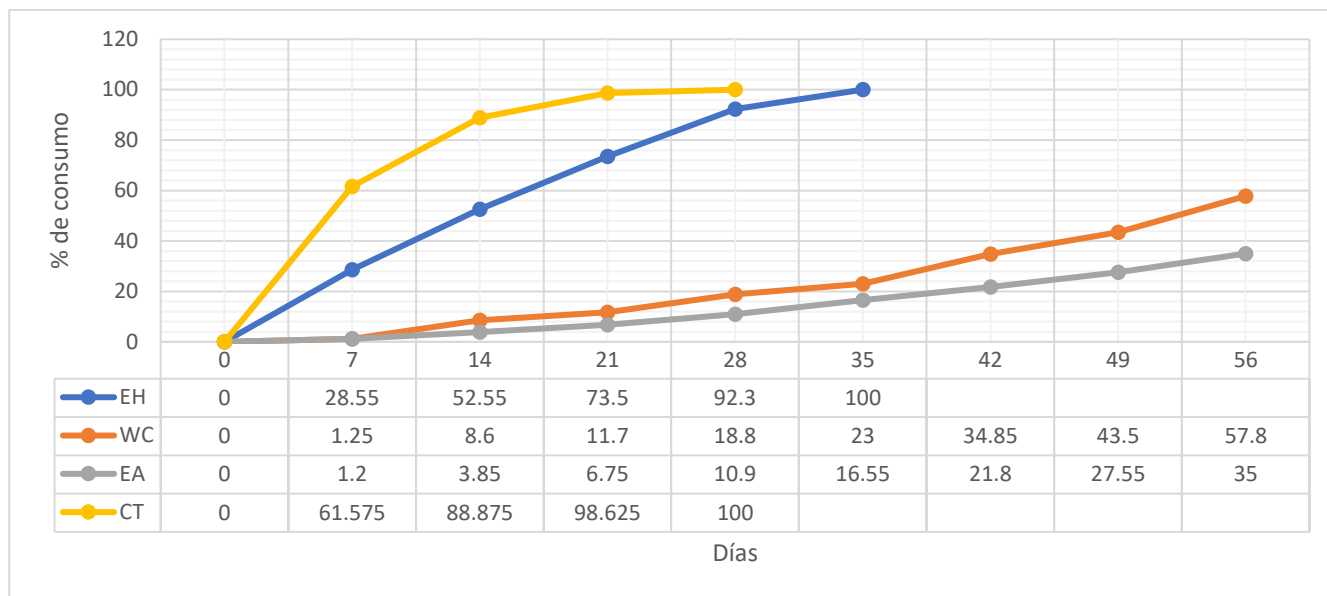


Figura 51. Promedio total en porcentaje de consumo de bolsas compostables y salvado de trigo consumido por las larvas de *T. molitor* con respecto al tiempo

Tabla 27. Comparación del porcentaje promedio de consumo y recuperación de plásticos compostables de cada tratamiento con *T. molitor*

Tratamiento	Peso Inicio (g)	Peso final (g)	% de recuperación	% de consumo (D)	Tiempo (días)
EH	5	0	0%	100%	35
WC	5	2.89	42.2%	57.8%	56
EA	5	3.25	65%	35%	56
CT	10	0	0%	100%	28

De acuerdo con los resultados mostrados en las gráficas 49, 50 y 51 y en la tabla 27, se observa que el grupo control y grupo EH consumieron el 100% del alimento proporcionado en 28 días y 35 días respectivamente, y al igual que con la especie *Z. morio* es importante resaltar que al grupo control se le proporcionó el doble de alimento que a los tratamientos EH, EA y WC, lo que sugiere que existen diferencias entre la tasa de consumo del salvado de trigo y la bolsa EH registrada para *T. molitor*.

De igual forma que con la especie *Z. morio*, el grupo EH muestra diferencias considerables con los grupos WC y EA, ya que el grupo EH consumió los 5 g en poco más de la mitad del tiempo que estos últimos. Sin embargo, con *T. molitor* se observan también diferencias entre el grupo WC y EA, siendo las larvas del grupo WC más eficientes en el consumo del plástico, es decir, se mostró mayor aceptación a esta que a la bolsa EA. Al realizar el análisis de varianza (ANOVA) se obtuvo una F de

62.42 siendo esta mayor al valor de F teórico $\alpha_{0.05}$ 3.49 lo que indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos. Posteriormente la prueba LSD mostro un valor de 12.610, indicando que existe diferencias significativas entre las medias de los grupos CT, WC y EA, también entre las medias de EH, EA y WC, y entre las medias de WC y EA. Por otro lado, únicamente no fueron observadas diferencias significativas entre el grupo CT y EH. De acuerdo con lo anterior puede mencionar que la bolsa que tuvo mayor aceptación por las larvas fue EH siendo consumida de forma similar al salvado de trigo (CT), las bolsas WC y EA tuvieron una menor aceptación, siendo la bolsa EA la que menos fue consumida por esta especie. En concordancia con los resultados obtenidos con la especie *Z. morio*, es muy probable que estos resultados estén relacionados con las características físicas y químicas de cada bolsa.

Análisis comparativo de las dos especies

Por otro lado, al realizar el análisis estadístico de bloques al azar se observó que no existen diferencias significativas entre las especies que consumieron las bolsas (F 0.3083, F teórica $\alpha_{0.05}$ 9.28), lo que indica que ambas especies fueron igual de eficientes al consumir las distintas bolsas, en contraste, si existieron diferencias significativas entre las distintas bolsas probadas pues se obtuvo una F de 131.281 siendo esta mayor al valor de F teórico $\alpha_{0.05}$ 10.1. Finalmente, la prueba LSD (13.979) señaló que existen diferencias significativas entre las medias del grupo control (CT) y los grupos EA y WC, y entre la media del grupo EH y los grupos EA y WC. Y no fueron observadas diferencias significativas entre los grupos CT y EH, y los grupos EA y WC. Dichos resultados sugieren que las bolsas WC y EA tuvieron menor aceptación que la bolsa EH. En la tabla 28 se muestra la comparación de los resultados obtenidos con ambas especies.

Tabla 28. Comparación del porcentaje promedio de consumo y recuperación de plásticos compostables de cada tratamiento usando *Z. morio* y *T. molitor*

Tratamiento	<i>Z. morio</i>			<i>T. molitor</i>		
	% de recuperación	% de consumo	Tiempo (días)	% de recuperación	% de consumo	Tiempo (días)
EH	0%	100%	28	0%	100%	35
WC	42.7%	57.3%	56	42.2%	57.8%	56
EA	47.6%	52.4%	56	65%	35%	56
CT	0%	100%	28	0%	100%	28

Los resultados descritos en el párrafo anterior igualmente sugieren que las características física y químicas de cada bolsa son las que determinan la aceptación o velocidad de consumo para la alimentación de las dos especies de larvas, y que ambas especies parecen tener afinidad similar para elegir las mezclas de polímeros contenidas en las distintas bolsas.

Trabajos que evidencien las tasas de consumo de polímeros como el PBAT, PLA y almidón de maíz separados o en su conjunto son muy escasos, por lo no es posible compara los resultados obtenidos en este trabajo con otros, no obstante, en el trabajo realizado por Peng et al., 2021, quienes evaluaron el consumo de PLA empleando a *T. molitor* en diferentes dietas durante 24 días, mostro que las dietas con 10%, 20% y 30% de PLA mezcladas con salvado de trigo fueron consumidas antes de los 24 días, la dieta con 50% PLA fue consumida al 100% hasta el día 37, y la dieta 100% PLA mostro un consumo de 2.17 g. Estos resultados mostraron que agregar salvado de trigo mejora el consumo del PLA. Como se observa en los resultados de la tabla 36 el consumo de las bolsas fue muy bueno considerando que a estas no se les mezclo con salvado, sin embargo, el contenido de polímeros principalmente el de almidón en las bolsas puede estar relacionado con su buena aceptación.

Por otro lado, algunos estudios como los de Peng et al., 2020a, Peng et al., 2020b, Peng et al., 2019, Yang et al., 2018, Yang et al., 2021a, Yang et al., 2021b, Bulak et al., 2021, Ciscino et al., 2019, entre otros, han mostrado que si existen diferencias en la tasa de consumo de plásticos (% de consumo) tales como: poliestireno, polietileno y polipropileno principalmente, en dichos trabajos se muestran diferencias muy claras entre los plásticos probados reportando consumos de hasta 90% de este tipo de plásticos en 45 días o menos del 12% en el mismo tiempo. Siendo esto coherente con los resultados obtenidos, aunque no sean el mismo tipo de polímeros, no obstante, es importante mencionar que un porcentaje de consumo alto no está relacionado directamente con un porcentaje alto de biodegradación del plástico.

8.4.2. Evaluación de ganancia o pérdida de biomasa y ecotoxicidad de las bolsas compostables probadas en *Tenebrio molitor* y *Zophobas morio*

Los resultados obtenidos son presentados en las siguientes gráficas y tablas, primero se muestran los resultados obtenidos con la especie *Zophobas morio*, siguiendo el orden de peso promedio total/tiempo, peso al final del tratamiento y sobrevivencia. Posteriormente son presentados en el mismo orden para *Tenebrio molitor* y finalmente se realiza una comparación entre ambas especies.

Zophobas morio

En la figura 52 y 53 se muestra la gráfica de peso promedio total de las larvas a lo largo del tiempo de tratamiento. El tiempo de tratamiento fue el tiempo en que terminarían los 5 g de bolsa o máximo 56 días.

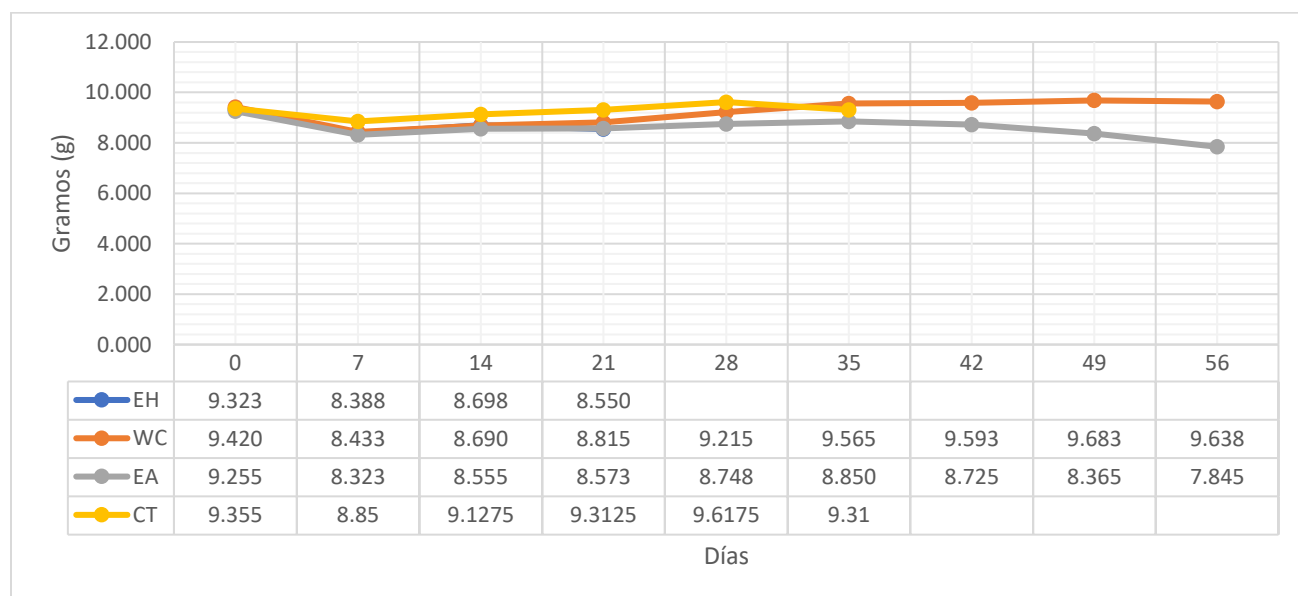


Figura 52. Peso promedio de todos los tratamientos de *Z. morio* con respecto al tiempo

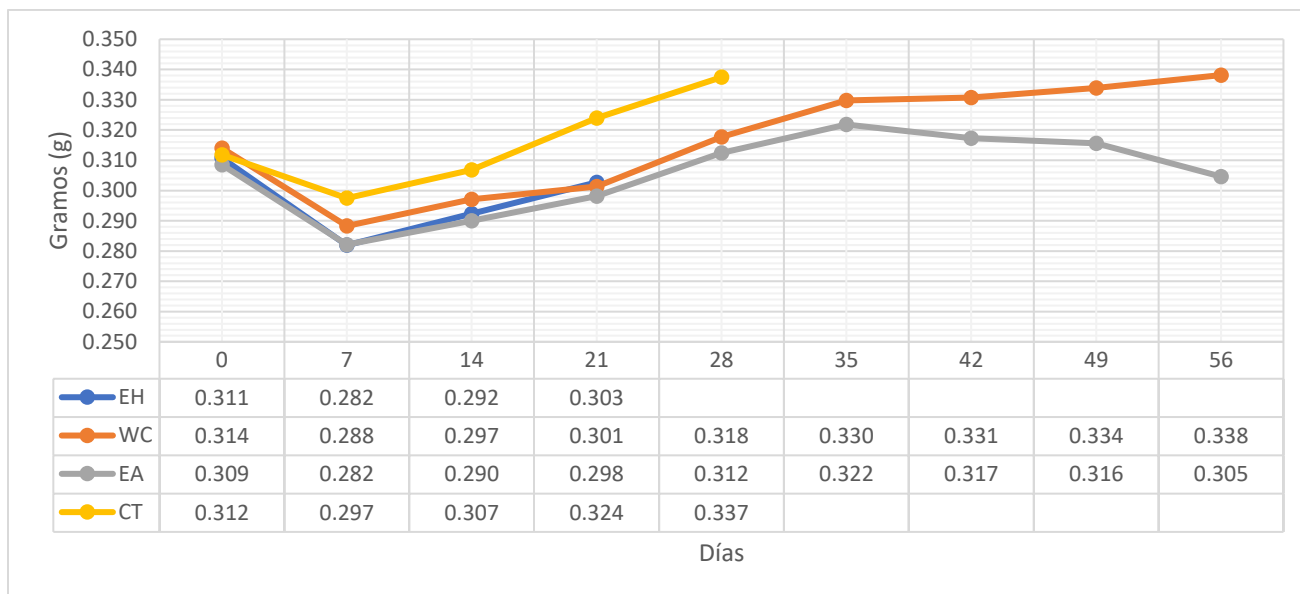


Figura 53. Peso promedio de todos los tratamientos de Z. morio por larva con respecto al tiempo y sobrevivencia

De acuerdo con los resultados obtenidos de peso promedio/tiempo figura 52, se puede observar que al inicio del experimento el peso de las larvas oscilaba entre 9.25 g en EA el grupo más bajo de peso y 9.42 g en WC el grupo con mayor peso en promedio, en los primeros 7 días existió una disminución de peso en todos los tratamientos. Posteriormente hubo un ligero aumento de peso hasta el día 35 y una disminución gradual hasta el día 56 en la bolsa EA, para la bolsa WC se observa un aumento de peso hasta el día 49 y para el día 56 comienza la caída en el peso, para la bolsa EH se observa un aumento de peso para el día 14 y una disminución para el día 21, siendo este día en el que las larvas consumieron totalmente los 5 g de plástico, y finalmente en el grupo control (CT) se observa un aumento de peso el día 28 de 9.6175 g en promedio, siendo el mayor en ese día, sin embargo, para el día 35 se observó una disminución de peso y finalización de la prueba para este tratamiento (consumo total de los 10 g de salvado de trigo). Estos resultados indican que la bolsa WC fue la bolsa que presentó la mayor ganancia de peso de todas las bolsas probadas, pero no fue mejor que el grupo control.

De igual forma es muy importante mencionar que a lo largo de la prueba existió mortalidad de larvas lo que influye directamente en el peso total de los tratamientos por esta razón en la figura 53 se muestra el peso promedio por larva obtenido del peso total de las larvas dividido entre la cantidad de larvas vivas en cada día de registro de datos. De acuerdo con la figura 53, el peso inicial por larva osciló entre 0.309 g en larvas EA y 0.314 g en las larvas WC. También puede observarse que el mayor peso

alcanzado fue el de las larvas que consumieron bolsa WC en el día 54, seguido del grupo control el día 28.

Por otro lado, al comparar los pesos el día 21, se observa que el mayor peso logrado fue por el grupo CT, seguido de grupo EH, grupo WC y finalmente EA. Estos resultados indica que probablemente la digestión de las bolsas por las larvas es similar en las primeras semanas, no obstante, debe considerarse como ya se mencionó anteriormente que la cantidad de larvas no fue constante, además, debe considerarse que estas fueron alimentadas con 1g de zanahoria semanalmente, es decir, la zanahoria no fue pesada proporcionalmente con la cantidad de larvas, lo que pudo dar ventaja de un mayor consumo de zanahoria a algunos tratamientos con menor número de larvas permitiéndoles ganar más peso.

En las figuras 54 y en la tabla 29 se muestran las comparativas de peso promedio inicial total contra peso promedio final total, y el porcentaje de ganancia o pérdida de biomasa de las larvas por cada tratamiento.

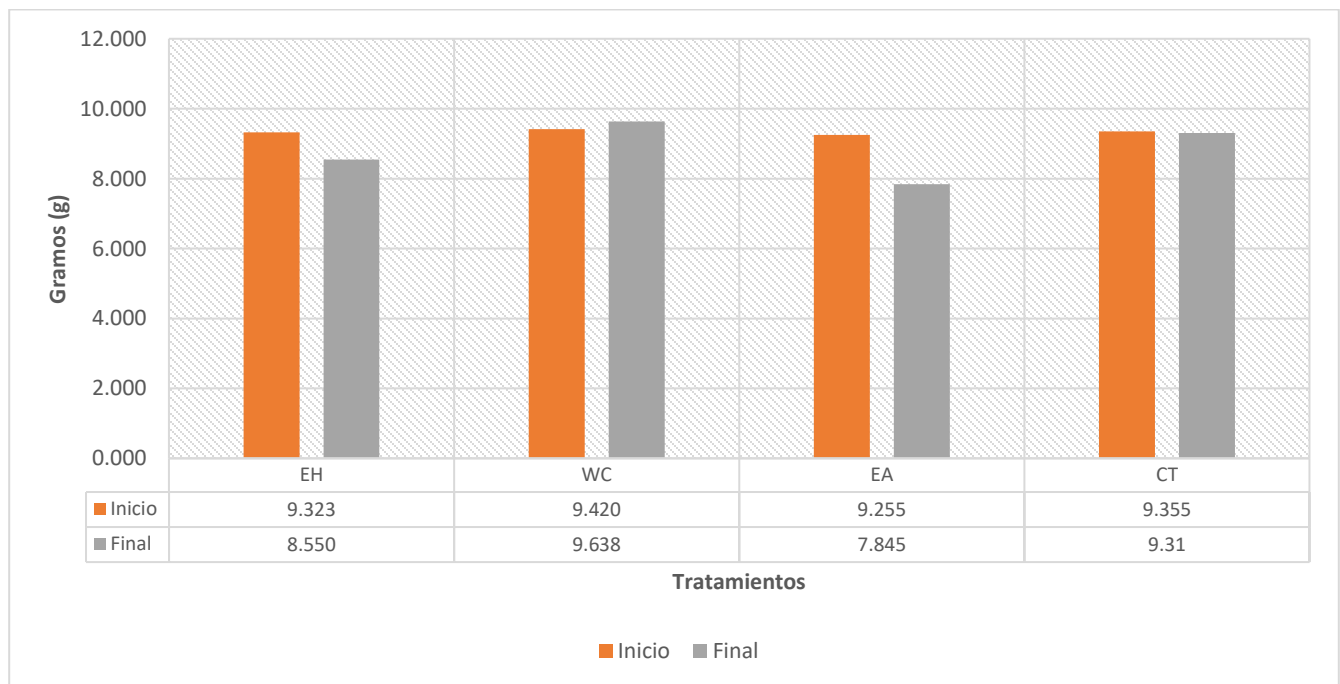


Figura 54. Comparativa de peso promedio inicial total contra peso promedio final total de las larvas de *Z. morio* por cada tratamiento

Tabla 29. Comparación del porcentaje de ganancia o pérdida de biomasa por larva de *Z. morio* en todos los tratamientos después de consumir 5 g de bolsa o alcanzados 56 días

Repeticiones	% biomasa			
	EH	WC	EA	CT
1	5.63	15.63	-6.85	10.88
2	-6.14	5.01	1.64	5.93
3	-6.36	5.39	0.15	7.74
4	-2.49	5.52	0.70	12.32
Promedio	-2.34	7.89	-1.09	9.22

Como puede observarse en la figura 54, el tratamiento en que las larvas ganaron mayor peso fue el realizado con la bolsa WC que paso de 9.42 a 9.63 g, en contraste el tratamiento donde las larvas perdieron mayor peso fue el de la bolsa EA pasando de 9.255 a 7.845 g, el grupo control mostró una ligera disminución de peso pasando de 9.355 a 9.31 g y finalmente el tratamiento EH mostró disminución en el peso, pero no tan significativa como la del tratamiento EA.

Por otro lado, de acuerdo con los resultados presentados en la tabla 29, se puede observar que el peso promedio por larva más alto obtenido al final del tratamiento corresponde al grupo control 9.22% de aumento de biomasa (pasando de 0.312 g a 0.337 g) , seguido del tratamiento WC 7.89% de aumento de biomasa (pasando de 0.314 g a 0.338 g), y finalmente el tratamiento EH y EA tuvieron una ligera disminución en el peso -2.34% de reducción de biomasa (pasando de 0.311 g a 0.303 g) y -1.09% de reducción de biomasa (pasando de 0.309 g a 0.305 g) respectivamente. Estos resultados sugieren que probablemente de forma general la bolsa WC presente la mayor digestibilidad (compostabilidad) a largo plazo siendo muy similar a la del grupo control.

Al realizar el análisis de varianza (ANOVA) se obtuvo una F de 7.00 siendo esta mayor al valor de F teórico $\alpha_{0.05}$ 3.49 lo que indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos. Posteriormente la prueba LSD mostro un valor de 6.962, y al comparar las diferencias de medias con este valor se constató que existen diferencias significativas entre las medias de los grupos CT, y EH y EA, y entre la media del grupo WC, y las medias de los grupos EA y EH. Por otro lado, no fueron observadas diferencias significativas entre el grupo CT y WC, y entre los grupos EA y EH.

Dichos resultados confirman que la bolsa que WC fue la bolsa que presento la mayor digestibilidad y asimilación al ser consumida por *Z. morio* lo que está relacionado con mejores características que

permiten más fácilmente su biodegradación. Y aunque existió aporte de zanahoria parece que esta no influye de forma significativa en la ganancia de peso.

Con respecto a la sobrevivencia, se puede observar en la figura 55 y en la tabla 30, que el grupo control y el tratamiento con la bolsa WC mostraron ligeramente la mayor sobrevivencia con 28.5 larvas en promedio, seguida de la bolsa EH 28.25 larvas, y finalmente la bolsa EA que mostro la menor sobrevivencia con 25.75 larvas en promedio.

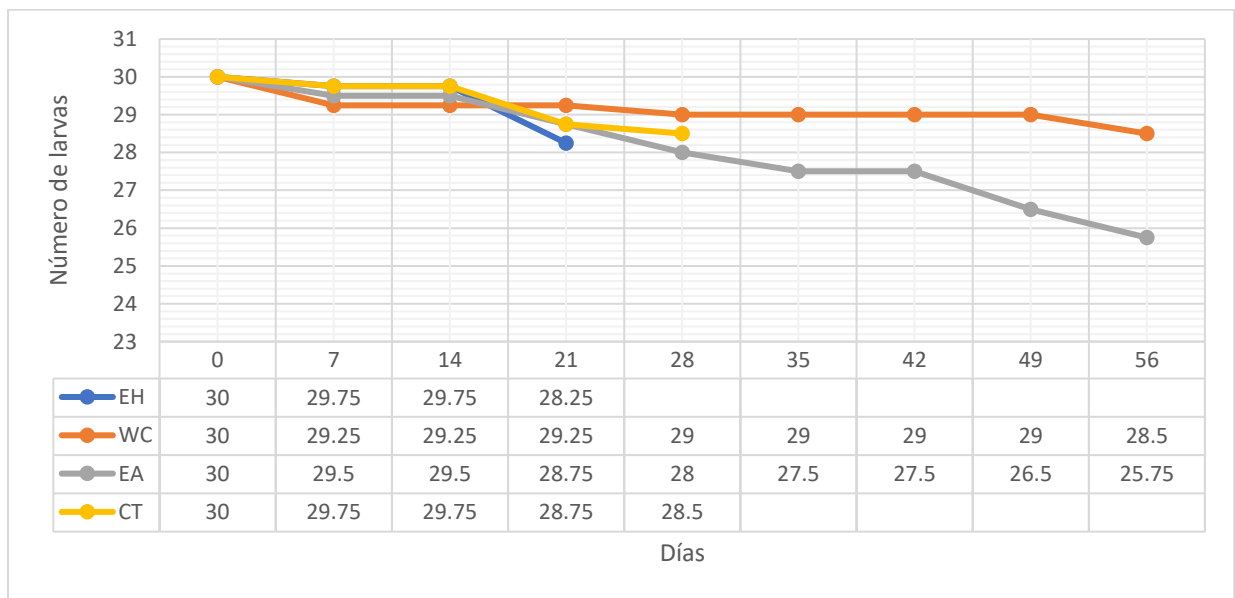


Figura 55. Promedio de sobrevivencia de larvas de *Z. morio* en cada tratamiento respecto al tiempo

Tabla 30. Comparación del porcentaje de sobrevivencia de las larvas de *Z. morio* en todos los tratamientos después de consumir 5 g de bolsa o alcanzados 56 días

Repeticiones	% sobrevivencia			
	EH	WC	EA	CT
1	86.67	86.67	93.33	90.00
2	100.00	100.00	83.33	100.00
3	96.67	100.00	83.33	100.00
4	93.33	93.33	83.33	90.00
Promedio	94.17	95.00	85.83	95.00

Los resultados obtenidos muestran que parece no existir diferencias en la sobrevivencia de larvas entre los tratamientos EH, CT y WC, manteniéndose vivas aproximadamente entre el 94.17% y el 95% las larvas colocadas al inicio del experimento, y por lo que probablemente no se observa efecto toxico o

algún otro efecto del plástico sobre las larvas, además, no se mostró gran diferencia entre el tratamiento con bolsa EH en el cual fueron consumidos los 5 g de plástico en su totalidad en 21 días, y el tratamiento WC que no consumió la totalidad del plástico pero se mantuvo durante 56 días y el grupo control que consumió los 10 g de salvado de trigo en 35 días. No obstante, el tratamiento EA mostro diferencias de sobrevivencia con respecto a los otros tratamientos pues no consumió la totalidad del plástico y la sobrevivencia disminuyo considerablemente hasta los 56 días siendo esta del 85.83%, por tanto, es probable que existiera un efecto toxico o relacionado a la estructura física del plástico que impidió una mejor digestión o tránsito intestinal del material, pues este tratamiento también mostro un bajo rendimiento en la ganancia de biomasa.

Al realizar el análisis de varianza (ANOVA) se obtuvo una F de 2.54 siendo esta mayor al valor de F teórico $\alpha_{0.05}$ 3.49 lo que indica que no existen diferencias significativas entre los tratamientos de forma general. Posteriormente la prueba LSD mostro un valor de 8.833, y al comparar las diferencias de medias con este valor se constató que no existen diferencias significativas entre las medias de los grupos CT, EH y WC. Sin embargo, fueron observadas diferencias significativas entre el grupo EA y todos los grupos. Dichos resultados confirman que la bolsa que EA presento algún efecto toxico o dañino que afecto directamente la sobrevivencia de *Z. morio*.

Tenebrio molitor

En la figura 56 y 57 se muestra la gráfica de peso promedio total de las larvas a lo largo del tiempo de tratamiento. El tiempo de tratamiento fue el tiempo en que terminaran los 5 g de bolsa o máximo 56 días.

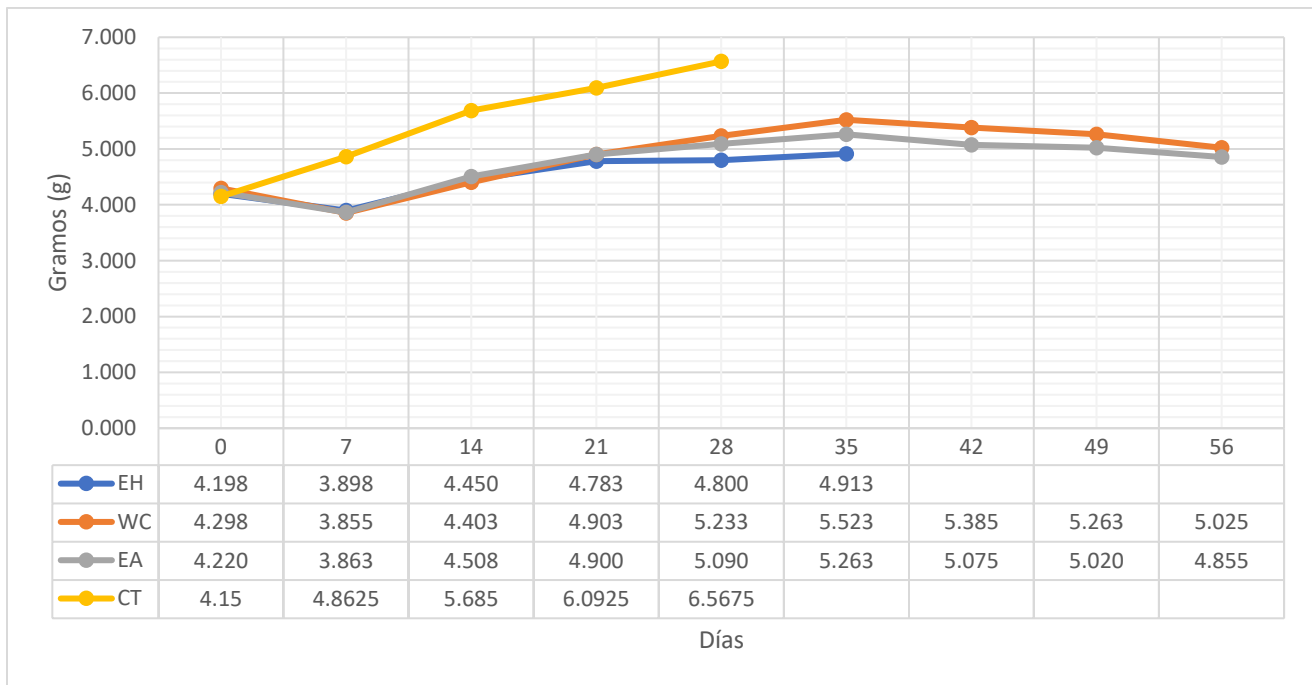


Figura 56. Peso promedio de las larvas *T. molitor* en todos los tratamientos respecto al tiempo

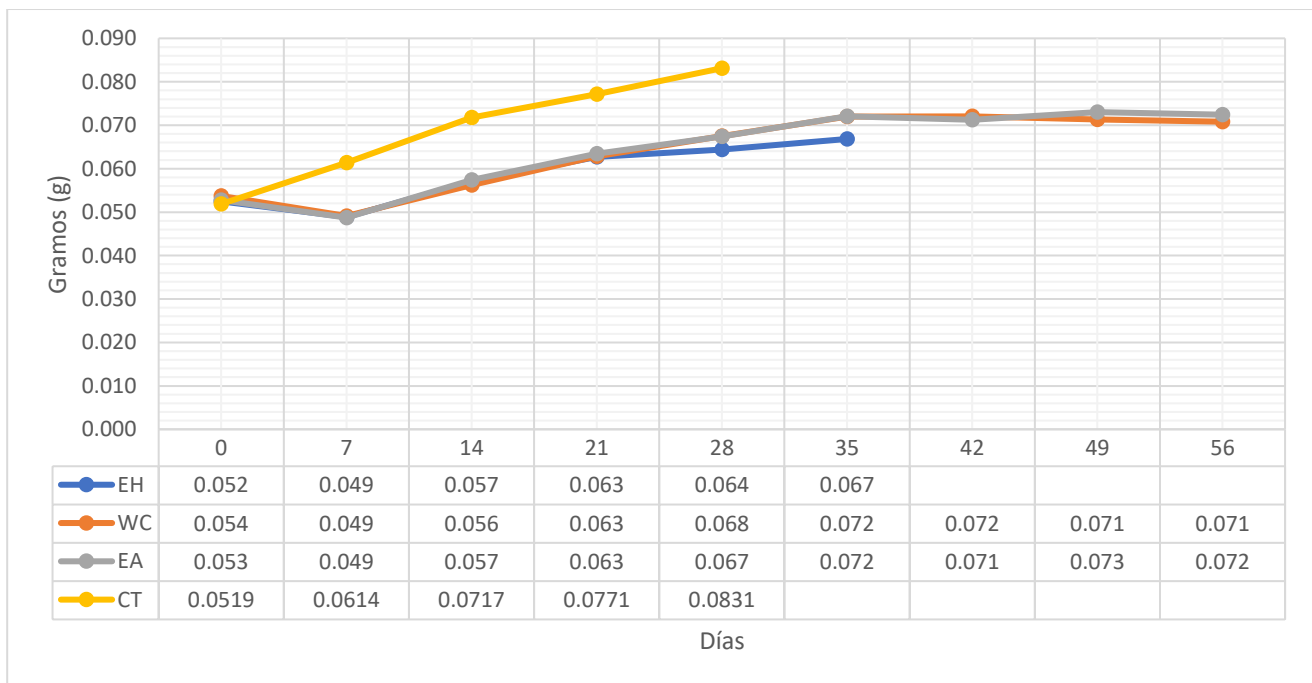


Figura 57. Peso promedio de todos los tratamientos de *T. molitor* por larva respecto al tiempo y sobrevivencia

De acuerdo con los resultados obtenidos de peso promedio/tiempo figura 56 se puede observar que al inicio del experimento el peso de las larvas en conjunto rondaba entre 4.15 g en CT el grupo más bajo de peso y 4.29 g en WC el grupo con mayor peso en promedio, en los primeros 7 días existió una disminución de peso en todos los tratamientos excepto en el grupo control en el cual se observó un aumento considerable de aproximadamente de 0.7 g.

Posteriormente hubo un aumento de peso considerable en todos los tratamientos hasta el día 35 y una disminución del peso hasta el día 56 en la bolsa EA. Para la bolsa WC se observó un comportamiento similar al de la bolsa EA entre los días 35 y 56, solo que las larvas de este tratamiento mostraron un peso mayor en comparación con EA, para la larvas con la bolsa EH se observó un aumento de peso similar al de EA y WC hasta el día 35 siendo este día en el cual terminaron en su totalidad los 5 g de bolsa compostable, es importante resaltar que a pesar de que las larvas de este tratamiento consumieron todo el plástico, fueron las que presentaron el menor peso en dicho día, y finalmente en el grupo control (CT) se observa un aumento de peso desde la primera semana y alcanzando el mayor peso registrado de todos los tratamientos con 6.56 g en promedio en el día 28, de igual forma el día 28 terminan en su totalidad los 10 g de salvado de trigo.

Estos resultados indican que la bolsa WC considerando todas las larvas fue la bolsa que presento la mayor ganancia de pesos de todas las bolsas probadas, pero no fue mejor que el grupo control.

De igual forma es muy importante mencionar que a lo largo de la prueba existió mortalidad de larvas lo que influye directamente en el peso total de los tratamientos por esta razón en la figura 57 se muestra el peso promedio por larva obtenido del peso total de las larvas dividido entre la cantidad de larvas vivas en cada día de registro de datos. De acuerdo con la figura 57, el peso inicial por larva oscilo entre 0.0519 g en larvas CT y 0.0537 g en las larvas WC. También puede observarse que el mayor peso alcanzado fue el de las larvas CT en el día 28 con 0.0831 g, seguido del grupo EA con 0.073 g el día 49.

Por otro lado, al comparar los pesos el día 35, se observa que el mayor peso logrado fue por el grupo CT, seguido de los grupos EA y WC con pesos similares y finalmente el grupo EH quien presento el menor peso por larva, aunque consumió en su totalidad los 5 g de plástico como ya fue mencionado.

Estos resultados indica que probablemente la digestión de las bolsas por las larvas en esta especie si puede ser diferente principalmente entre la bolsa EH y las bolsas EA y WC siendo que en estas últimas

el comportamiento fue muy similar considerando los resultados por larva, y en lo general y particular (figuras 44 y 45) la bolsa EH mostro menor valor.

En las figuras 58 y en la tabla 31 se muestran las comparativas de peso promedio inicial total contra peso promedio final total, y el porcentaje de ganancia o pérdida de biomasa de las larvas por cada tratamiento.

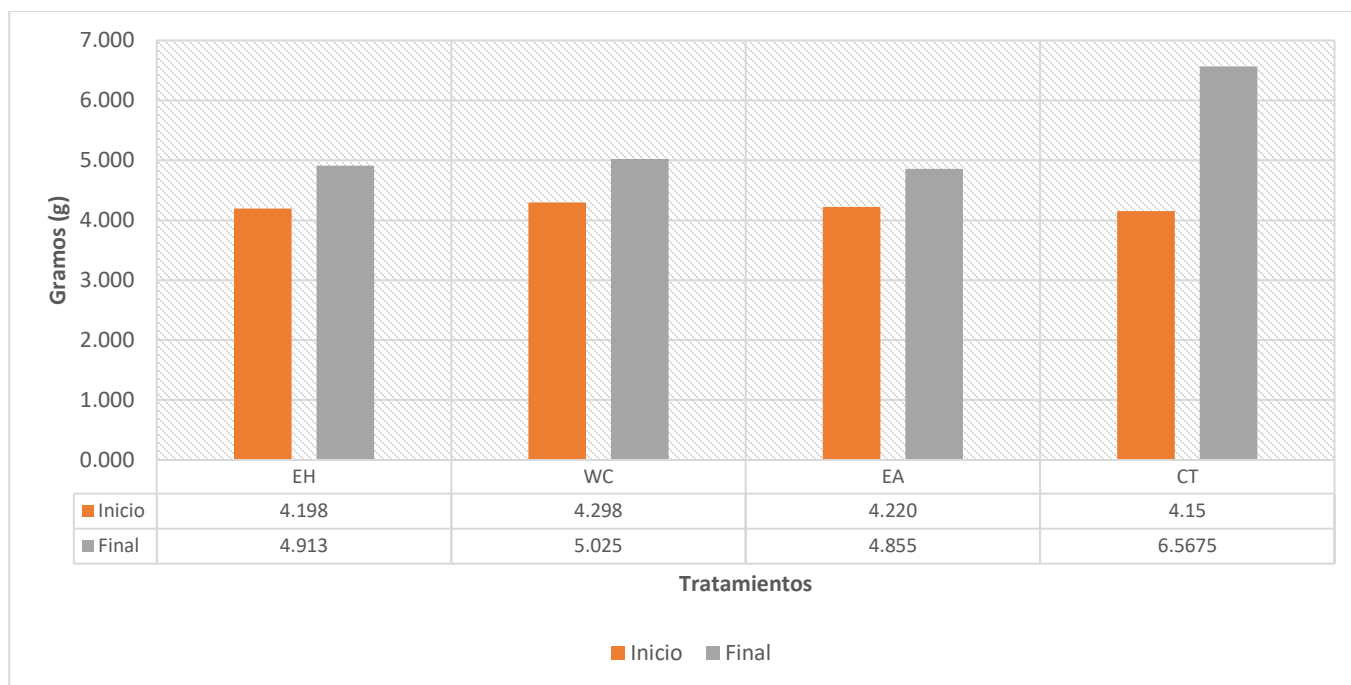


Figura 58. Comparativa del peso promedio inicial total contra peso promedio final total de las larvas de *T. molitor* por cada tratamiento

Tabla 31. Comparación del porcentaje de ganancia o pérdida de biomasa por larva de *T. molitor* en todos los tratamientos después de consumir 5 g de bolsa o alcanzados 56 días

Repeticiones	% biomasa			
	EH	WC	EA	CT
1	31.43	32.66	37.21	56.06
2	26.11	36.38	32.83	57.83
3	24.88	32.98	40.85	70.84
4	27.21	24.87	39.05	56.52
Promedio	27.41	31.72	37.49	60.31

Como puede observarse en la figura 58, las larvas del grupo control fueron las que ganaron mayor peso pasando de 4.15 g a 6.56 g. En cuanto a los tratamientos, el tratamiento en que las larvas ganaron mayor peso fue el realizado con la bolsa WC que paso de 4.29 g a 5.02 g, en contraste el tratamiento donde las larvas ganaron menor peso fue el de la bolsa EA pasando de 4.22 a 4.85 g, sin embargo, en los 3 tratamientos puede que no existan diferencias pues en todos los casos los pesos son muy similares, además el tratamiento WC inicio ligeramente arriba en peso que los tratamientos EH y EA.

Sin embargo, de acuerdo con los resultados presentados en la tabla 31, se puede observar que el peso por larva más alto obtenido al final de la prueba fue el del grupo control con un 60.31% de ganancia en biomasa (pasando de 0.052 a 0.083 g), y en los tratamientos corresponde al tratamiento EA con un 37.49% de ganancia de biomasa (pasando de 0.053 g a 0.072 g en promedio), seguido por el grupo W con un 31.72% de ganancia de biomasa (pasando de 0.054 g a 0.071 g), y finalmente el tratamiento EH con un 27.41% de ganancia en biomasa (pasando de 0.052 g a 0.067 g).

Los resultados indican que es probable que no exista diferencia entre las bolsas EA y WC con esta especie y que puedan ser asimiladas de forma similar por *T. molitor*, no obstante, la bolsa EH si muestra diferencias con estas. De igual forma no se puede descartarse el efecto de la zanahoria y la cantidad de larvas, lo que pudo dar ventaja de un mayor consumo de zanahoria a algunos tratamientos con menor número de larvas permitiéndoles ganar más peso.

Al realizar el análisis de varianza (ANOVA) se obtuvo una F de 36.87 siendo esta mayor al valor de F teórico $\alpha_{0.05}$ 3.49 lo que indica que existen diferencias significativas entre los tratamientos. Posteriormente la prueba LSD mostro un valor de 7.448, y al comparar las diferencias de medias con este valor se constató que existen diferencias significativas entre la media del grupo control y las medias de todos los tratamientos (EH, WC y EA), y entre la media del grupo EA y el grupo EH. Por otro lado, no fueron observadas diferencias significativas entre el grupo EA y WC, y entre los grupos EH y WC.

Estos resultados indican que las bolsas WC y EA son las bolsas que presentaron la mayor digestibilidad y asimilación al ser consumida por *T. molitor* lo que puede estar relacionado con mejores características que permiten más fácilmente su biodegradación. No obstante, es importante mencionar que es posible que la zanahoria tenga un papel relevante en estos resultados.

Con respecto a la sobrevivencia, se puede observar en la figura 59 y en la tabla 32, que el grupo control mostro la mayor sobrevivencia con 79 larvas en promedio, seguida de la bolsa EH con 73.5, después la bolsa WC con 71 y finalmente la bolsa EA con 67.

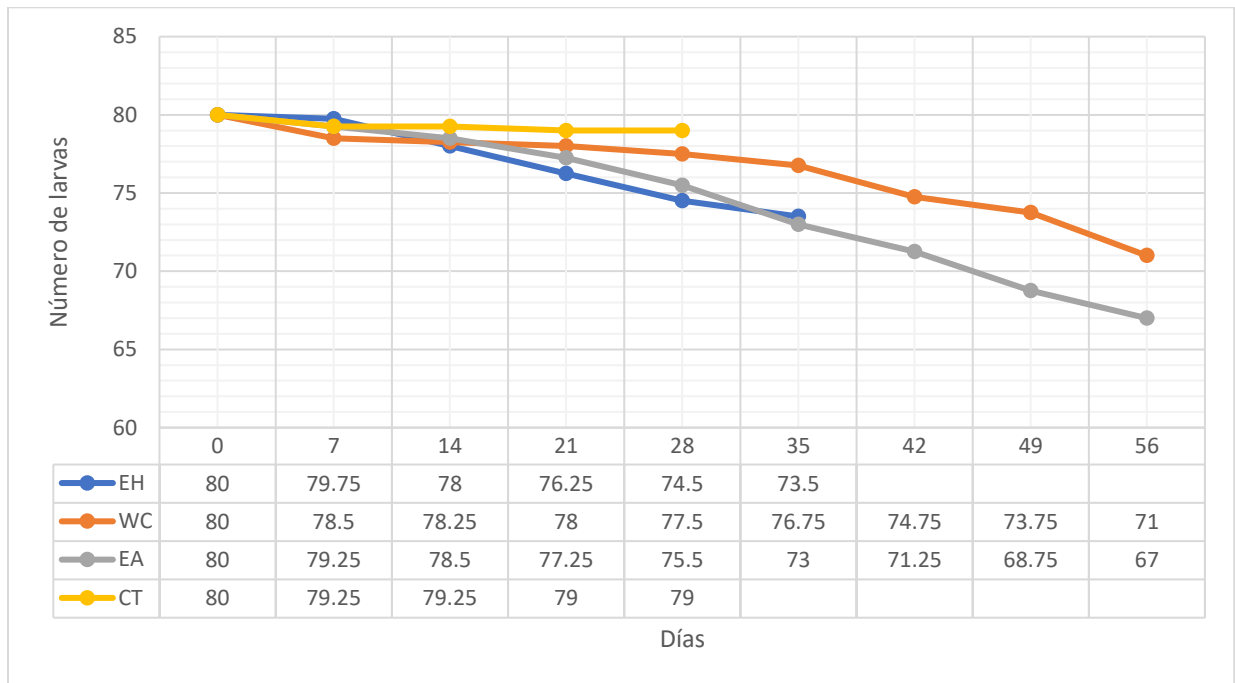


Figura 59. Promedio de sobrevivencia de larvas de *T. molitor* en cada tratamiento respecto al tiempo

Tabla 32. Comparación del porcentaje de sobrevivencia de las larvas de *T. molitor* en todos los tratamientos después de consumir 5 g de bolsa o alcanzados 56 días.

Repeticiones	% sobrevivencia			
	EH	WC	EA	CT
1	90	90	85	98.75
2	95	90	87.5	98.75
3	92.5	87.5	80	98.75
4	90	87.5	82.5	98.75
Promedio	91.88	88.75	83.75	98.75

Los resultados obtenidos muestran que parece existir diferencias en la sobrevivencia de larvas entre el grupo control y todos los tratamientos lo que sugiere que probablemente *T. molitor* sea más sensible al consumo de plásticos compostables que *Z. morio*, pues la sobrevivencia del grupo control fue de 98.75% en promedio, la del tratamiento EH fue de 91.87%, y los tratamientos WC y EA fueron 89.37% y 83.75% en promedio respectivamente. Así mismo, los resultados muestran que parecen existir

diferencias entre los tratamientos con respecto a la sobrevivencia siendo la más marcada entre el tratamiento EH con 91.87% y WC 89.37% con el tratamiento EA con 83.75%.

Así mismo, al analizar los resultados obtenidos en los tratamientos en el día 35, se observa que las diferencias de sobrevivencia no son tan marcadas, mostrando el tratamiento WC 95.93% de sobrevivencia, el tratamiento EH 91.87% de sobrevivencia y el tratamiento EA 91.25% de sobrevivencia, sin embargo, es importante mencionar que en el día 35 las larvas EH consumieron totalmente los 5 g de bolsa plástica y las larvas de EA consumieron 0.8275 g de bolsa, lo que puede indicar como ya se observó en *Z. morio* que esta bolsa compostable tiene un efecto tóxico o alguna característica física en la estructura del plástico que produce la mortalidad.

Al realizar el análisis de varianza (ANOVA) se obtuvo una F de 34.76 siendo esta mayor al valor de F teórico $\alpha_{0.05}$ 3.49 lo que indica que no existen diferencias significativas entre los tratamientos de forma general. Posteriormente la prueba LSD mostro un valor de 3.289, y al comparar las diferencias de medias con este valor se constató que únicamente no que existen diferencias significativas entre las medias de los grupos EH y WC. El grupo CT mostro diferencias significativas con todos los tratamientos (EH, WC y EA), y el grupo EA mostro diferencias significativas con todos los grupos (CT, WC y EH). Dichos resultados confirman que es posible que *T. molitor* sea más sensible a los plásticos y que la bolsa que EA presento algún efecto toxico o dañino que afecto directamente la sobrevivencia de *T. molitor* como se observó con *Z. morio*.

Análisis comparativo de las dos especies

Al realizar el análisis estadístico de bloques al azar para el porcentaje de biomasa considerando a ambas especies (*T. molitor* y *Z. morio*) y las distintas bolsas (EH, EA y WC) y el salvado de trigo (CT) se observó que no existen diferencias significativas en general entre todos los tratamientos (F 7.69, F teórica $\alpha_{0.05}$ 10.1), no obstante, al realizar la prueba LSD se obtuvo un valor de 18.857 que al compararlo con las medias de todos los tratamientos se obtuvo diferencia significativa únicamente entre el grupo CT y el grupo EH, lo que indica que esta bolsa estadísticamente es la menos capaz de generar ganancias de biomasa (en comparación con el alimento control), siendo un indicador de baja biodegradabilidad, también es importante resaltar que las bolsas EA y WC muestra una similitud en cuanto a las ganancias de biomasa lo que indica que es posible que ambas sea similares en cuanto a su biodegradabilidad, no obstante, la bolsa WC fue la única que mostro ganancia de biomasa en ambas

especies durante la prueba, lo que sugiere que esta bolsa puede presentar las mejores características fisicoquímicas para su biodegradación.

Por otro lado, se observaron diferencias significativas entre ambas especies en cuanto a su ganancia o pérdida de biomasa ($F_{12.17}$, F teórica $\alpha_{0.05}$ 9.28) lo que indica que *T. molitor* presenta una mayor eficiencia para digerir los distintos polímeros probados en comparación con *Z. morio* (incluyendo la zanahoria), estos resultados pueden estar relacionados con la microbiota contenida en los intestinos de cada especie, las enzimas digestivas, y posiblemente con su estadio larval. En la tabla 33 se muestra la comparación de los resultados obtenidos con ambas especies.

Tabla 33. Comparación del porcentaje promedio de ganancia o pérdida de biomasa alcanzado por *Z. morio* y *T. molitor* en cada tratamiento

Tratamiento	<i>Z. morio</i>	<i>T. molitor</i>	Promedio
	% de biomasa	% de biomasa	
EH	-2.34	27.41	12.53
WC	7.89	31.72	19.81
EA	-1.09	37.49	18.20
CT	9.22	60.31	34.77
Promedio	3.41	39.23	X

Los resultados descritos anteriormente sugieren que las características física y químicas de cada bolsa compostable son las que determinan el grado de biodegradación que presentan, porque, aunque existieron diferencias entre la eficiencia de ambas especies para la digestión de estas, la bolsa EH fue la única que mostro diferencias con el grupo control.

Como ya fue mencionado en el punto anterior (8.4.1), son escasos los estudios que evalúen la actividad de *T. molitor* y *Z. morio* con polímeros como el PBAT y PLA, sin embargo, algunos estudios como el de Bozek et al., 2017, donde se alimentó a larvas de *T. molitor* con PLA puro, se mostraron pérdidas de biomasa (-15%) después de 21 días, y en el estudio de Peng et al., 2021 quien también alimento a larvas de *T. molitor* con PLA puro, se observó una pérdida de biomasa de -13.75% al final de la prueba, no obstante, al disminuir el contenido de PLA y aumentar el de salvado de trigo se observaron aumentos de biomasa, por ejemplo, la mezcla 50/50 mostro un aumento del 15% en biomasa y su grupo control (salvado de trigo puro) un aumento del 27% en biomasa sugiriendo que cierto contenido de otros polímeros ayuda a la digestión y asimilación. Al comparar los resultados de los estudios antes citados

con los mostrados en la tabla 33 se puede destacar que la pérdida de biomasa únicamente fue registrada con *Z. morio* y para las bolsas EA y EH, pero en menor cantidad, lo que puede deberse a que la mezcla de polímeros en las bolsas (PBAT, PLA y almidón), dicha mezcla pudo influir en una mejor degradación y asimilación. Sin embargo, parecen ser importantes las características fisicoquímicas (calidad) y proporciones de cada polímero que componen las bolsas, ya que en el trabajo de Peng et al., 2021 solo se observó aumento en la biomasa cuando se incluyó salvado de trigo (que contiene otros compuestos), y en el presente trabajo no se observaron pérdidas de biomasa tan grandes, y si fueron registradas ganancias sin la adición de salvado de trigo.

Por otro lado, In-Hag et al., 2020 reportaron pérdida de biomasa del 16.3% al alimentar larvas de *Z. morio* con poliestireno durante 27, probando que, aunque existió consumo, este no pudo verse reflejado en ganancia de biomasa, y finalmente Wu y Criddle, 2021, reportan que el consumo de algunos polímeros como el poliestireno pueden ayudar al mantenimiento de las larvas en cuanto a sus gastos energéticos, pero no al aumento de biomasa debido a deficiencia de nutrientes en este plástico por lo que se puede experimentar una ligera pérdida de biomasa, dicho fenómeno es posible que se haya dado con los polímeros presentes en EH y EA, y únicamente con el metabolismo de las larvas de *Z. morio* que se alimentaron de ellas.

En cuanto el análisis estadístico de bloques al azar para la evaluación del porcentaje de sobrevivencia se observó que no existen diferencias significativas entre la sobrevivencia de ambas especies (F 0.2320, F teórica $\alpha_{0.05}$ 9.28), lo que significa que ambas especies mostraron una sobrevivencia similar viéndose afectadas de la misma forma por las bolsas compostables con las que fueron alimentadas. En contraste, se observó que si existieron diferencias significativas entre las distintas bolsas proporcionadas como alimento y la sobrevivencia de los organismos pues se obtuvo una F de 17.986 siendo esta mayor al valor de F teórico $\alpha_{0.05}$ 10.1. Finalmente, la prueba LSD (6.553) indicó que existen diferencias significativas entre la media del grupo EA y los demás grupos (EH, WC y CT). Estos resultados sugieren que la bolsa EA puede presentar un efecto tóxico o dañino que las otras bolsas no presentan. En la tabla 34 se muestra la comparación de los resultados obtenidos con ambas especies.

Tabla 34. Comparación del porcentaje promedio de sobrevivencia en cada tratamiento usando *Z. morio* y *T. molitor*

Tratamiento	<i>Z. morio</i>	<i>T. molitor</i>	Promedio
	% de sobrevivencia	% de sobrevivencia	
EH	91.88	94.17	93.02
WC	88.75	95.000	91.88
EA	83.75	85.83	84.79
CT	98.75	95.00	96.88
Promedio	92.50	90.78	X

Al comparar estos resultados con otros donde larvas de Tenebrionidos fueron alimentadas con algún polímero compostable, tenemos que el estudio de Peng et al., 2021, reportó que al alimentar a larvas de *T. molitor* con 100% PLA puro se registró una sobrevivencia de *T. molitor* del 82%, con una dieta de 10% de PLA la sobrevivencia fue del 93% y con 100% salvado de trigo fue del 91%, siendo similares los resultados a los expuestos en la tabla 34. Por lo anterior es posible que el efecto de la bolsa EA pueda deberse únicamente a muerte por falta de nutrientes en las larvas y no tanto a un efecto tóxico, ya que en el caso de la Bolsa WC y EA la sobrevivencia se evaluó hasta los 56 días, y con EH fue a los 28 días momento en que comieron los 5 g de bolsa.

Otros estudios en donde larvas de Tenebrionidae fueron alimentadas con plásticos, se encuentra el de Peng et al., 2020a, en donde se alimentó solo con PCV larvas de *T. molitor* reportando una sobrevivencia del 80% hasta los 35 días, en dicho trabajo se atribuyen las bajas principalmente a falta de nutrientes, Peng et al., 2021b, reportó sobrevivencias del 83 al 95% en periodos de 33 a 56 días alimentado larvas de *Z. atratus* con poliestireno y polietileno de baja densidad atribuyendo principalmente las muertas a desnutrición, y finalmente Yang et al., 2018 reportó una sobrevivencia de *T. molitor* alimentada con poliestireno mayor al 85% en 32 días. Estos resultados pueden sugerir que es posible que este fenómeno haya podido observarse en el presente estudio y no este directamente relacionado a toxicidad de bolsas si no a falta de nutrientes.

8.4.3. Análisis de la biodegradación de bolsas compostables mediante el análisis del carbono orgánico total presente en las heces de las larvas de *T. molitor* y *Z. morio*

Los resultados obtenidos de análisis del carbono orgánico total de las heces (COT) y el porcentaje de biodegradación logrado por la digestión de los organismos son presentados en las tablas 35, 36 y 37, primero se muestran los resultados obtenidos con la especie *Zophobas morio*, posteriormente los de *Tenebrio molitor*, y finalmente se realiza una comparación entre ambas especies.

Tabla 35. Porcentaje de COT contenido en heces y porcentaje de biodegradación de bolsas compostables logrado por la digestión de larvas de *Z. morio*

Tratamiento	Repeticiones	% COT en heces	% COT promedio en bolsa y control	% de biodegradación
EH	1	30.96%	34.87%	11.22%
	2	30.89%		11.42%
	3	31.02%		11.03%
	Promedio	30.96%		11.22%
WC	1	30.44%	53.85%	43.47%
	2	30.74%		42.92%
	3	30.12%		44.07%
	Promedio	30.43%		43.49%
EA	1	28.54%	34.38%	16.98%
	2	29.95%		12.88%
	3	29.16%		15.18%
	Promedio	29.22%		15.01%
CT	1	22.22%	24.43%	9.04%
	2	22.07%		9.63%
	3	22.01%		9.91%
	Promedio	22.10%		9.53%

Como puede observarse en la tabla 35, de acuerdo con los resultados obtenidos la bolsa compostable que presentó una mayor biodegradación fue la WC con 43.49%, seguido de la bolsa EA con 15.01%, EH con 11.22%, y finalmente el grupo CT con 9.53%. Dichos resultados indican que parecen existir diferencias significativas casi en todos los tratamientos, sugiriendo que las características física y químicas (proporción de polímeros) de la bolsa WC la hacen más fácilmente degradable y asimilable por *Z. morio* en comparación con las otras bolsas. Por otro lado, el grupo CT que es salvado de trigo obtuvo la menor biodegradación según el análisis de COT, esto puede estar relacionado principalmente a la composición química del alimento y la microbiota presente en el intestino de *Z. morio*.

Al realizar el análisis de varianza (ANOVA) se obtuvo una F de 637.29 siendo esta mayor al valor de F teórico $\alpha_{0.05}$ 4.07 lo que indica que no existen diferencias significativas entre los tratamientos de forma general. Posteriormente la prueba LSD mostro un valor de 0.02060, y al comparar las diferencias de medias con este valor se constató únicamente no que existen diferencias significativas entre las medias de los grupos EH y CT. Dichos resultados confirman que la bolsa WC muestra las mejores características fisicoquímicas para ser digerida por *T. molitor*, seguida de la bolsa EA, y finalmente la bolsa EH presentando las peores características de biodegradabilidad.

Por otro lado, como se puede observar en la tabla 36, los resultados obtenidos del análisis del COT en las heces de *T. molitor*, mostraron que la bolsa compostable que presentó una mayor biodegradación fue nuevamente la WC con 48.23%, seguido de la bolsa EA con 15.04%, CT con 13.75%, y finalmente el grupo CT con 10.75%. Dichos resultados indican que parecen existir diferencias significativas casi en todos los tratamientos, siendo resultados muy similares a los obtenidos con *Z. morio*. Estos resultados sugieren que las características fisicoquímicas de la bolsa WC también son las más adecuadas para que *T. molitor* pueda digerir con facilidad los polímeros presentes.

Tabla 36. Porcentaje de COT contenido en heces y porcentaje de biodegradación de bolsas compostables logrado por la digestión de larvas de *T. molitor*.

Tratamiento	Repeticiones	% COT en heces	% COT promedio en bolsa	% de biodegradación
EH	1	31.36%	34.87%	10.06%
	2	30.95%		11.23%
	3	31.05%		10.95%
	Promedio	31.12%		10.75%
WC	1	28.64%	53.85%	46.82%
	2	27.33%		49.25%
	3	27.67%		48.62%
	Promedio	27.88%		48.23%
EA	1	28.78%	34.38%	16.28%
	2	29.61%		13.87%
	3	29.23%		14.97%
	Promedio	29.21%		15.04%
CT	1	21.10%	24.43%	13.62%
	2	21.09%		13.66%
	3	21.15%		13.42%
	Promedio	21.11%		13.57%

El grupo CT (salvado de trigo) nuevamente mostro una baja biodegradación según el análisis de COT, sin embargo, se observó una mayor biodegradación con *T. molitor* en comparación con *Z. morio*, sugiriendo que *T. molitor* probablemente sea más eficiente, de igual forma el nivel bajo de biodegradación puede estar relacionado con la fisicoquímica del alimento y la microbiota en intestinos.

Finalmente, al realizar el análisis estadístico de bloques al azar para el porcentaje de biodegradación según el COT detectado en las heces de ambas especies (*T. molitor* y *Z. morio*) y los distintos alimentos (bolsas EH, EA y WC y salvado de trigo CT), se observó que existen diferencias significativas (F 466.551, F teórica $\alpha_{0.05}$ 10.1), y al realizar la prueba LSD se obtuvo un valor de 0.04277751 que al compararlo con las medias de todos los tratamientos se observaron diferencias significativas entre el grupo WC y los demás grupos (EH, EA y CT). No se observaron diferencias significativas entre las medias de los grupos EH, EA y CT. Estos resultados confirman que la bolsa WC es la que presenta las mejores características para ser biodegradada usando los escarabajos de la familia *Tenebrionidae*, y que las bolsas EA y EH se comportan de manera similar estadísticamente, aunque parece ser ligeramente mejor la bolsa EA pues la diferencia de las medias de estas (0.04041667), está muy cerca de superar el valor LSD, por tanto la bolsa EH podría ser la bolsa con las peores características física y químicas lo cual limita su digestión (biodegradación) en ambas *T. molitor* y *Z. morio*.

En cuanto a los bajos porcentajes de biodegradación obtenidos con el salvado de trigo (grupo control CT) en ambas especies, se puede mencionar que estos resultados pueden ser debidos principalmente a la composición química de este producto, de acuerdo con Chaquilla-Quilca et al., 2018, la composición del salvado trigo consta de aproximadamente 60% Fibra dietaría total (compuesta principalmente de celulosa, hemicelulosa y lignina), 20% almidón, 14% proteínas de alto valor biológico, 5% lípidos y el resto cenizas y humedad. Dicha composición permite que las larvas puedan satisfacer sus requerimientos fisiológicos permitiendo un aumento de biomasa, no obstante, es probable que tenga ciertas dificultades para la asimilación de los polímeros contenidos en la fibra dietaría pues según Ortiz, 2009, la lignina forma una matriz que envuelve a la celulosa y hemicelulosa, y la degradación de lignina es un prerrequisito para la hidrólisis de los demás componentes de la biomasa vegetal, los cuáles son la principal fuente de carbono y energía para los microorganismos. Sin embargo, la hidrofobicidad, la estructura aleatoria, compleja y carente de enlaces hidrolizables comunes, hacen de la lignina resistente a la degradación por parte de la mayoría de microorganismos degradadores de celulosa, su biodegradación es realizada por un número restringido de microorganismos,

principalmente hongos, los cuales no forman parte de la microbiota de las larvas, siendo una posible explicación al aumento de biomasa, pero limitada disminución del COT.

Por otro lado, no se observaron diferencias significativas entre ambas especies en cuanto al COT detectado en sus heces después de comer las bolsas y el salvado de trigo (F 0.8005, F teórica $\alpha_{0.05}$ 9.28) lo que indica que *T. molitor* y *Z. morio* pueden ser considerados estadísticamente igual de eficientes para la degradación de los polímeros, no obstante, es posible que ambas especies metabolicen de forma diferente los polímeros de los plásticos, y los carbohidratos, grasas y proteínas del salvado de trigo ya que si se observaron diferencias en cuanto al % biomasa generada en ambas especies, sugiriendo que *T. molitor* posiblemente puede construir más biomasa (almacenar) y *Z. morio* la utilice principalmente como energía; también es posible que estos resultados puedan tener relación con el estadio larval en que se encontraba cada organismo y los requerimientos según su metamorfosis, y con diferencias en cuanto a la microbiota presente en los intestinos de cada especie. En la tabla 37 se muestra la comparación de los resultados obtenidos con ambas especies.

Tabla 37. Comparación del porcentaje promedio de biodegradación de bolsas compostables en cada tratamiento evaluando el COT presente en las heces de *Z. morio* y *T. molitor*.

Tratamiento	% de biodegradación promedio		Promedio
	<i>Z. morio</i>	<i>T. molitor</i>	
EH	11.22%	10.75%	10.99%
WC	43.49%	48.23%	45.86%
EA	15.01%	15.04%	15.03%
CT	9.53%	13.57%	11.55%
Promedio	19.81%	21.90%	X

Los resultados mostrados en la tabla 37 no pudieron ser comparados con otros trabajos debido a que la medición de COT en las heces de las larvas no es ocupada comúnmente como una técnica para determinar la biodegradación de polímeros, de acuerdo con Wu y Criddle, 2021 quienes realizaron el *Capítulo 5: Caracterización de la biodegradación de plásticos en larvas de insectos*, las mediciones más utilizadas para determinar este parámetro son: la determinación gravimétrica de la pérdida de peso, la cromatografía de permeación en gel (GPC), la espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), el análisis termogravimétrico (TGA), la resonancia magnética nuclear de protones (HNMR), el análisis calorimétrico diferencial de barrido (DSC), las observaciones microscópicas, el ángulo de contacto con el agua (WCA), el etiquetado isotópico, entre otros. No obstante, la medición del porcentaje de COT en las heces de las larvas parece ser viable, debido a que las diferencias de

carbono orgánico en el polímero con que se alimenta a las larvas y las heces de éstas, refleja parcialmente el carbono que es asimilado y utilizado por los organismos, reportando esto de forma cuantitativa.

8.5. Análisis de la composición de la composta/humus de *T. molitor* y *Z. morio*

8.5.1. Análisis mediante espectrometría de infrarrojo (IR-ATR)

En las figuras 60 se muestra las heces de las larvas de *T. molitor* y *Z. morio* por cada plástico y el salvado de trigo (CT) que consumieron. En las figuras 61, 62, 63 y 64 se muestra la comparación de los espectros IR de cada bolsa compostable y los espectros IR obtenidos por la actividad digestiva de ambas especies al consumir cada bolsa.

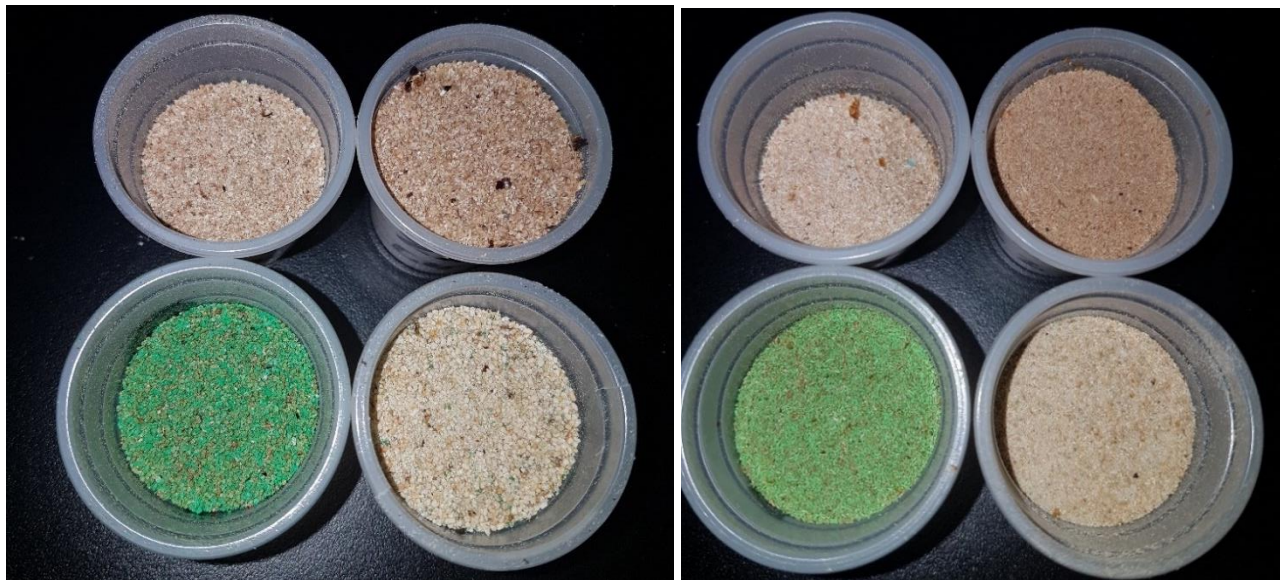


Figura 60. Imagen Izquierda heces de las larvas de *Z. morio* obtenidas después del consumo de los distintos plásticos. De izquierda a derecha arriba EA y CT, abajo WC y EH. Imagen derecha heces de las larvas de *T. molitor* obtenidas después del consumo de los distintos plásticos. De izquierda a derecha arriba EA y CT, abajo WC y EH

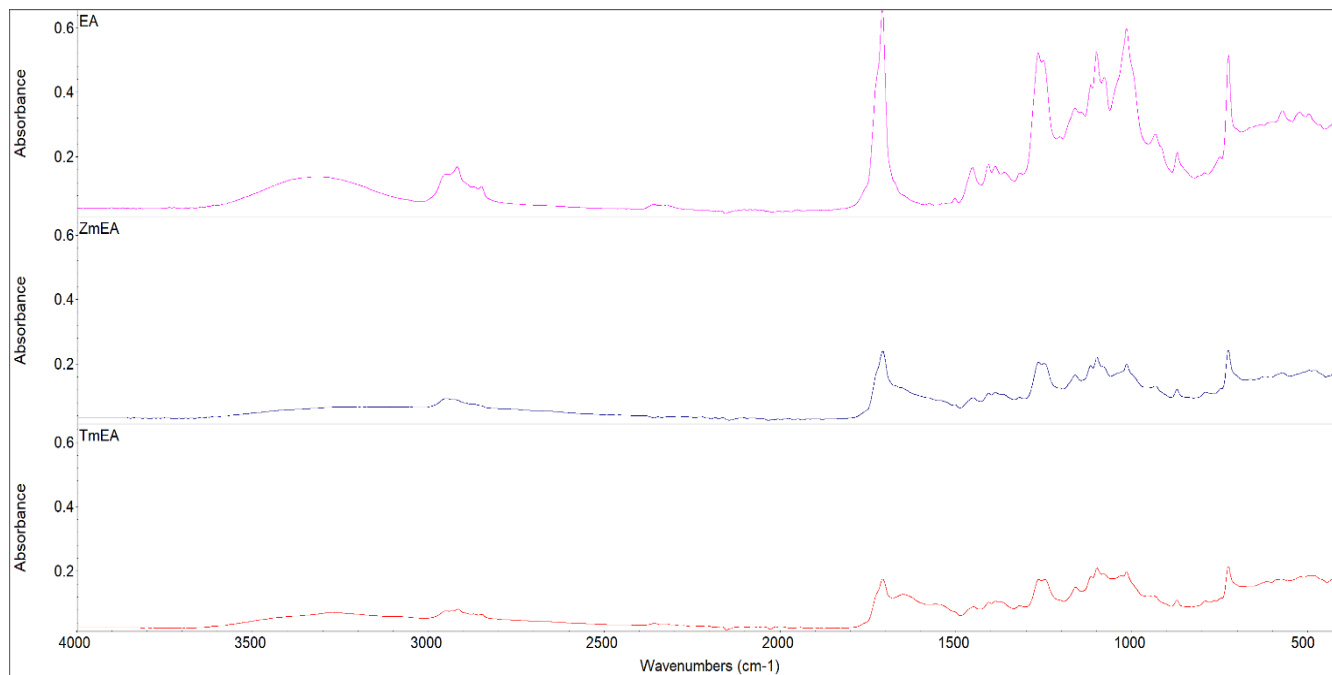


Figura 61. Comparación de los espectros IR de la bolsa EA, y después de la actividad digestiva (heces) de *Z. morio* (ZmEA) y *T. molitor* (TmEA)

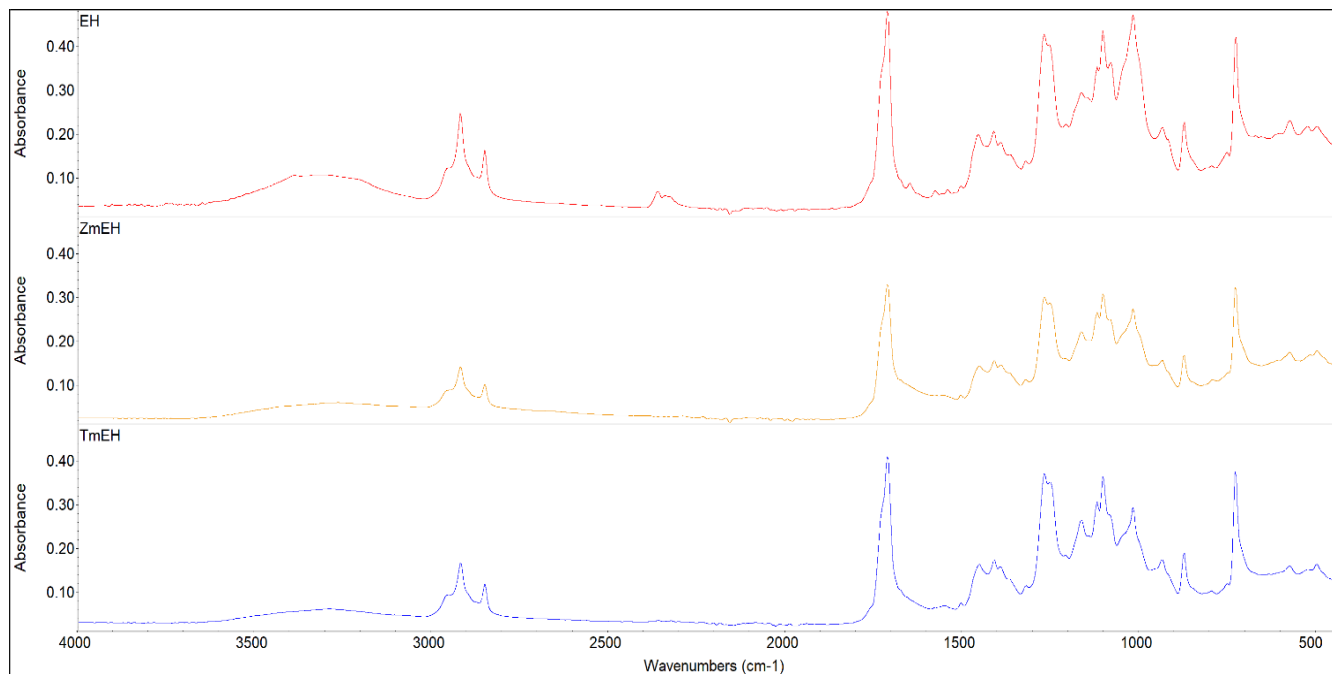


Figura 62. Comparación de los espectros IR de la bolsa EH, y después de la actividad digestiva (heces) de *Z. morio* (ZmEH) y *T. molitor* (TmEH)

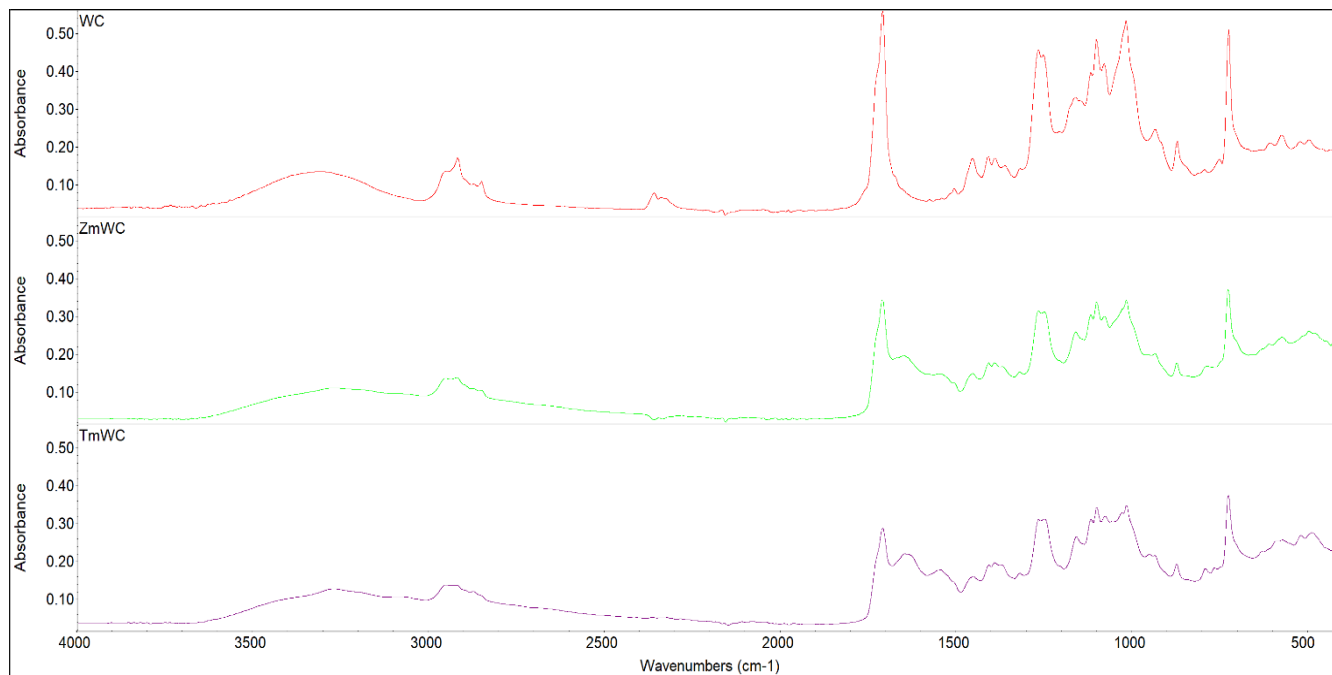


Figura 63. Comparación de los espectros IR de la bolsa WC, y después de la actividad digestiva (heces) de Z. morio (ZmWC) y T. molitor (TmWC)

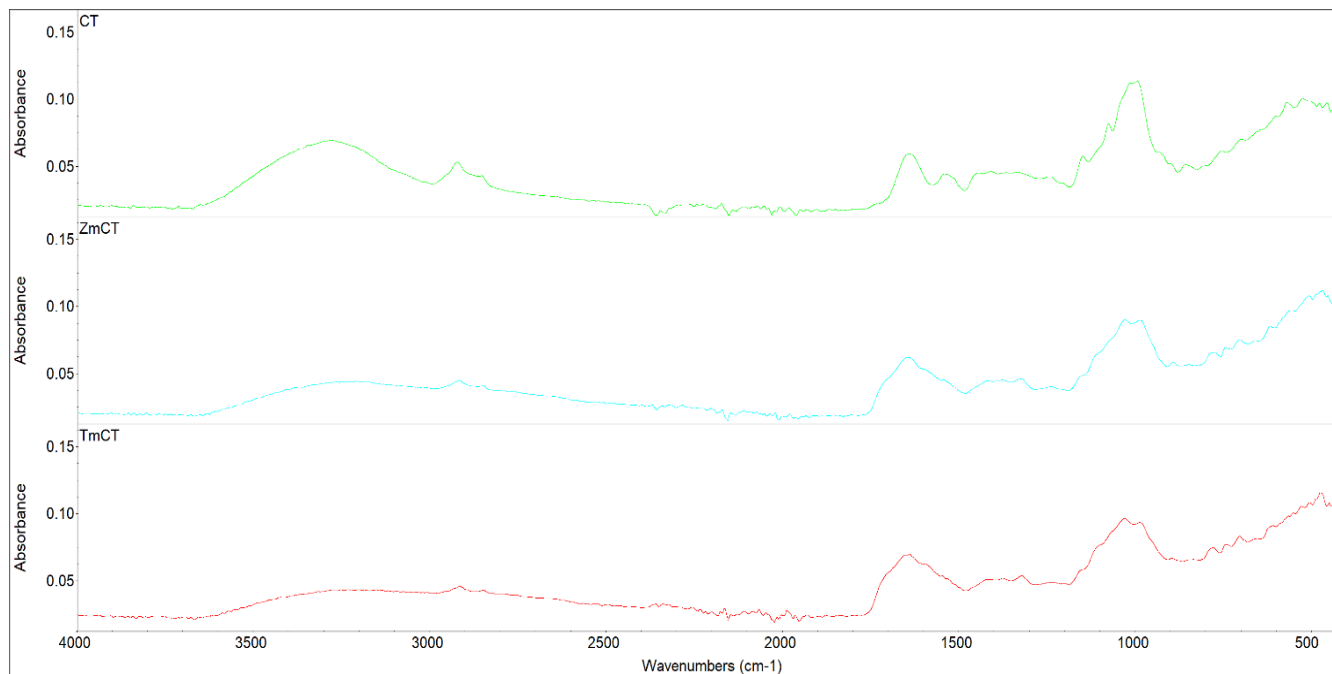


Figura 64. Comparación de los espectros IR del salvado de trigo (CT), y después de la actividad digestiva (heces) de Z. morio y T. molitor

Como puede observarse en las figuras comparativas 61, 62, 63 y 64 se evidenció una disminución en la señal de los picos más representativos de los espectros IR de las 3 bolsas compostables probadas (espectros detallados en punto 8.3.1.), dichos picos son 1710 cm^{-1} , 1504 cm^{-1} , 1459 cm^{-1} , 1410 , 1390 cm^{-1} , 1268 cm^{-1} , 1110 cm^{-1} , 1019 cm^{-1} , 873 cm^{-1} , 727 cm^{-1} , característico del PBAT (Matos Costa et al., 2020, Weng et al., 2013, Jiang et al., 2020), para el PLA se muestra $1453\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$, 1381 cm^{-1} , 1210 cm^{-1} , 1190 cm^{-1} , 1160 cm^{-1} y 1083 cm^{-1} 869 cm^{-1} 757 cm^{-1} (Alfei et al., 2021, Montañez et al., 2014, Weng et al., 2013, Leroy et al., 2017. Paragkumar et al., 2006, Yang et al., 2008), y el pico $2919\text{-}2920\text{ cm}^{-1}$ (posiblemente del PLA) mostro disminución en la señal o ya no se detectó. Y finalmente, ya no fue detectado el pico $3320\text{-}3310\text{ cm}^{-1}$ así como disminución del pico 934 cm^{-1} característicos del almidón de maíz (Abdullah et al., 2018, Wang y Xie 2010, Orsini et al., 2021, Kizil et al., 2002). Estos resultados sugieren que existió una biodegradación parcial de los polímeros presentes, mismos resultados que son corroborados con los análisis de COT vistos anteriormente en el punto 8.4.3. De igual forma como en el análisis de COT, la bolsa que presento mayor cambio fue la bolsa WC, seguido de la bolsa EA y, finalmente la bolsa EH, indicando que todas presentan cierto grado de biodegradación una vez que pasan por el tracto digestivo de los organismos, no obstante, presentan diferente susceptibilidad a este proceso, siendo EH la más resistente al proceso.

De igual forma, en las figuras 61, 62 y 63, se puede observar que los espectros infrarrojos de las heces de las larvas de ambas especies son muy similares entre sí, solamente se observan algunos cambios en las señales de algunos picos, mostrado que las dos especies parecen ser igual de eficientes para la degradación de los polímeros probados, y que es probable que las diferencias en biomasa observadas anteriormente puedan deberse a los estadios larvales y enzimas presentes en cada especie.

Por otro lado, de acuerdo con los resultados mostrados en la figura 64 se observa que también existió cambio en el espectro IR del grupo CT (salvado de trigo), siendo evidente que los picos que pueden estar relacionados con el almidón desaparecieron indicando biodegradación, no obstante, se observó un ligero aumento y la aparición de nuevos picos pudiendo ser estados de oxidación de los polímeros presentes. Estos resultados muestran cierta resistencia del CT a ser asimilado, y así como se observó en los resultados de COT es posible que el aumento de biomasa se deba a las proteínas y almidón presente en el control, más que a los polímeros de fibra (celulosa, hemicelulosa y lignina) que son aproximadamente el 60% el total del alimento (Chaquilla-Quilca et al., 2018).

Al comparar los resultados obtenidos mediante el análisis de IR en este trabajo con otros trabajos donde se evalúa biodegradación de plásticos se corroboró que existió biodegradación de los polímeros presentes en las bolsas probadas. Algunos trabajos en donde se reporta biodegradación de plásticos mediante la disminución de la señal o cambio del espectro IR medido en heces de insectos se puede mencionar el de Wang et al., 2022, Rana et al., 2022, Ghatge et al., 2020, In. Hag et al., 2020, Peng et al., 2021, Bulak et al., 2021, Yang y Wu, 2020, Peng et al., 2020a, Peng et al., 2020b, Peng et al., 2019 y Yang et al., 2021, siendo todos coherentes con los resultados obtenidos en cuanto a su interpretación.

8.5.2. Análisis de metales mediante espectrometría de masas (ICP-OES)

En la tabla 38 se muestran los resultados de la evaluación de metales detectados después de la digestión de las bolsas compostables (EH, EA y WC) realizada por las larvas de *Z. morio* y *T. molitor*, así mismo se realiza una comparación con los límites máximos permisibles establecidos por las normas NOM-004-SEMARNAT-2002 y UNE EN 13432:2001, y los detectados en las bolsas integras.

Tabla 38. Comparación de los metales detectados en las bolsas compostables evaluadas y después de la digestión de las mismas realizada por *Z. morio* y *T. molitor*.

Elemento	λ (nm)	LMP Excelente ¹	LMP Bueno ¹	LMP ²	EH	mg/kg							
						<i>Z. morio</i>	<i>T. molitor</i>	EA	<i>Z. morio</i>	<i>T. molitor</i>	WC	<i>Z. morio</i>	<i>T. molitor</i>
As	189.0	41.0	75.0	5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
Cd	226.5	39.0	85.0	0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
Co	228.6	n/a	n/a	n/a	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
Cr	267.7	1200.0	3000.0	50	3.2	4.7	6.0	1.3	<0.5	<0.5	7.7	5.5	6.0
Cu	324.8	1500.0	4300.0	50	3.0	10.0	10.5	2.8	7.5	9.5	46.5	45.5	45.6
Mo	202.0	n/a	n/a	1	<0.5	n/a	n/a	<0.5	n/a	n/a	1.0	n/a	n/a
Ni	231.6	420.0	420.0	25	0.7	<0.5	<0.5	0.8	<0.5	<0.5	9.0	9	8.3
Pb	220.4	300.0	840.0	50	9.2	28.0	31.0	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
Se	196.0	n/a	n/a	n/a	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5
Zn	213.9	2800.0	7500.0	150	76.6	83.5	69.5	50.0	72.5	70.0	9.0	31.5	28.6

¹NOM-004-SEMARNAT-2002, ²UNE EN 13432:2001.

De acuerdo con la tabla 38 se observa que después de la digestión de las bolsas compostables existió un mínimo aumento en la cantidad de Cr, Cu, Pb y Zn lo cual puede estar relacionado a que las heces procesadas para esta prueba también contenían restos de zanahoria (las larvas fueron alimentadas con zanahoria para proporcionar agua) pudiendo esto modificar ligeramente el contenido de metales (Por las proporciones zanahoria/plásticos), de igual forma, puede estar relacionado con variaciones del equipo usado, sin embargo, al ser comparadas con los LMP se observa que se encuentran dentro de los criterios de aceptación, pudiendo considerarse un método útil para la evaluación de metales después de un proceso de biodegradación.

También es importante resaltar que la cantidad de metales detectada antes y después del proceso de digestión de las larvas es similar o mayor, lo que sugiere que los metales son acumulados mínimamente o no son acumulados por los organismos.

Los resultados mostrados en la tabla 38 no pudieron ser comparados con otros trabajos debido a que la medición de metales en este tipo de muestras (heces de Tenebrionidos) no es una prueba común, pues esta es realizada directamente en la composta o en el plástico. No obstante, la medición de metales en las heces de las larvas parece ser viable, debido a que se puede evaluar entra y salida de estos de forma directa reflejando de forma parcial el camino que pueden tener durante el proceso de biodegradación de plásticos compostables.

9. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos durante el desarrollo del proyecto de investigación se puede concluir que:

Las dos especies de la familia Tenebrionidae *Z. morio* y *T. molitor*, presentan características similares en cuanto al consumo, sobrevivencia y biodegradación de plásticos compostables de acuerdo con los métodos de análisis empleados, lo que convierte a ambas especies en una herramienta potencial, adecuada y viable que puede ser usada para la implementación de un método rápido para evaluar biodegradación, ecotoxicidad y contenido de metales en plásticos compostables, o como un método de apoyo a otras metodologías que evalúen los mismos parámetros en bolsas compostables haciéndolas más eficientes y eficaces. Para el caso de este proyecto se menciona su uso exclusivamente en bolsas compostables o artículos desechables fabricados con mezclas de PBAT, PLA y almidón de maíz.

Las bolsas compostables EH y EA acreditaron la prueba estandarizada para evaluar la desintegración mientras que la bolsa WC no acreditó.

Ninguna de las bolsas probadas acreditó la prueba estandarizada para la evaluación de biodegradación mediante la captura de CO₂, sin embargo, fueron observadas diferencias entre las mismas.

Ninguna de las bolsas evaluadas presentó efecto tóxico sobre las dos especies vegetales empleadas.

Fueron detectados los polímeros PBAT, PLA y almidón de maíz en las tres bolsas compostables evaluadas confirmado los datos expresados en sus fichas técnicas.

Todas las bolsas compostables probadas se encontraron dentro de los límites máximos permitidos para contenido de metales pesados de acuerdo con la normatividad nacional e internacional cumpliendo este requisito para ser consideradas compostables.

Las características físicas, químicas y las proporciones de los distintos polímeros (PBAT, PLA y almidón de maíz) que componen las bolsas compostables influyen en la velocidad de consumo y la afinidad que tienen *T. molitor* y *Z. morio* para alimentarse de estas.

T. molitor muestra una mayor capacidad para digerir y asimilar todas las bolsas probadas, lo que sugiere que su microbiota y enzimas digestivas son más eficientes para la ganancia de biomasa, por su parte, es posible que *Z. morio* use la energía obtenida de los polímeros principalmente para mantenimiento de sus funciones vitales y no para construcción de tejidos.

No fue observado un efecto tóxico de las bolsas compostables sobre *T. molitor* y *Z. morio*.

Fue observada una reducción en el contenido de carbono orgánico total en las tres bolsas compostables evaluadas una vez que fueron consumidas y excretadas por *T. molitor* y *Z. morio* indicando que existió un proceso de biodegradación.

Fue corroborado el proceso de biodegradación al observar disminución de la señal en los picos representativos del espectro infrarrojo en las tres bolsas compostables una vez que fueron analizadas las heces de ambas especies.

Pudieron ser detectados metales en las heces de las larvas de *T. molitor* y *Z. morio* en cantidades similares o mayores a las detectadas en las bolsas compostables integrales sugiriendo que no existe un fenómeno de acumulación.

La metodología estandarizada normativamente y el método rápido propuesto empleando *T. molitor* y *Z. morio* mostraron similitudes para la evaluación de la ecotoxicidad y biodegradación.

10. RECOMENDACIONES

1. Para futuras pruebas mediante el empleo de estas especies de insectos, se recomienda usar como material control alguna película de almidón puro, comercial o fabricada dentro del laboratorio, lo que podría apoyar significativamente la comparación e interpretación de los resultados obtenidos con bolsas compostables comerciales.
2. Asegurar que todos los polímeros compostables que pretendan ser probados cuenten con información porcentual de sus componentes y características físicas (Fichas de especificaciones técnicas) lo que permitirá una mejor interpretación de resultados.

11. REFERENCIAS

1. Abe, M. M., Branciforti, M. C., & Brienzo, M. (2021). Biodegradation of hemicellulose-cellulose-starch-based bioplastics and microbial polyesters. *Recycling*, 6(1), 22.
2. Abdullah, A. H. D., Chalimah, S., Primadona, I., & Hanantyo, M. H. G. (2018, June). Physical and chemical properties of corn, cassava, and potato starchs. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 160, No. 1, p. 012003). IOP Publishing.
3. Ahmed, T., Shahid, M., Azeem, F., Rasul, I. Ali Shah A., Noman, M., Hameed, A., Manzoor, N., Manzoor, I., y Muhammad, S. (2018). Biodegradation of plastics: current scenario and future prospects for environmental safety. *Environmental Science and Pollution Research*. 25:7287–7298.
4. Ahn, H. K., Huda, M. S., Smith, M. C., Mulbry, W., Schmidt, W. F., & Reeves III, J. B. (2011). Biodegradability of injection molded bioplastic pots containing polylactic acid and poultry feather fiber. *Bioresource technology*, 102(7), 4930-4933.
5. Alfei, S., Schito, A. M., & Zuccari, G. (2021). Biodegradable and compostable shopping bags under investigation by FTIR spectroscopy. *Applied Sciences*, 11(2), 621.
6. Alshehrei, F. (2017). Biodegradation of Synthetic and Natural Plastic by Microorganisms. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*. Vol. 5, No. 1. Pp. 8-19.
7. Almeida, A., Ruiz, J.A., López, N.I., Pettinari, M.J. (2004). Bioplásticos: una alternativa ecológica. *Química Viva*, vol. 3, núm. 3. pp. 122-133. Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.
8. Álvarez, Z. J., Espinosa, V. R., Beltran, V. M., Vázquez, M. A., Moreno, M. A., Cadena, A. C., Yáñez, L. M. (2012). Evaluación de la fitotoxicidad de plásticos degradables en crecimiento del tomate verde. Universidad Autónoma Metropolitana Azcapotzalco. [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.aidisnet.org/wpcontent/uploads/2019/07/349-Mexico-oral.pdf](https://www.aidisnet.org/wpcontent/uploads/2019/07/349-Mexico-oral.pdf)

9. Arandes, J. M., Bilbao, J., y López, V. D. (2004). Reciclado de residuos plásticos. Revista Iberoamericana de Polímeros. Volumen 5(1).
10. Arias, V. C. (2018). Estudio de la biodegradabilidad y ecotoxicidad de plásticos oxodegradables de mayor uso en Colombia. Tesis de grado Doctoral. Universidad Autónoma Metropolitana. Ciudad de México, México.
11. Arrieta, M. P. (2014). Films de PLA y PLA-PHB plastificados para su aplicación en envases de alimentos. Caracterización y análisis de los procesos de degradación (Doctoral dissertation, University Polytechnic de Valencia).
12. Arutchelvi, J., Sudhakar, M., y Arkatkar, A. (2008). Biodegradation of polyethylene and polypropylene. Indian Journal of Biotechnology Vol. 7. Pp 9-22
13. AS 4736-2006: Plástico biodegradable: plásticos biodegradables aptos para el compostaje y otros tratamientos microbianos - Territorio de la Capital Australiana.
14. ASTM D5338-11 Método de prueba estándar para determinar la biodegradación aeróbica de materiales plásticos en condiciones de compostaje controladas, incorporando temperaturas termófilas.
15. ASTM D5511-12 Método de prueba estándar para determinar la biodegradación anaeróbica de materiales plásticos en condiciones de digestión anaeróbica con alto contenido de sólidos
16. ASTM 2017. D5338-15. Standard Test Method for Determining Aerobic Biodegradation of Plastic Material Under Controlled Composting Conditions, Incorporating Thermophilic Temperatures.
17. ASTM D5988-12. Método de prueba estándar para determinar la biodegradación aeróbica de materiales plásticos en el suelo.
18. ASTM D6400 - Etiquetado de plásticos diseñados para ser aeróbicamente compostados en plantas municipales o industriales.

19. ASTM D7475-11. Método de prueba estándar para determinar la degradación aeróbica y la biodegradación anaeróbica de materiales plásticos en condiciones de vertedero de biorreactores acelerados.
20. Bahl, S., Dolma, J. Jyot, S.J. y Sehgal, S. (2021). Biodegradation of plastics: A state of the art review. *Materials Today: Proceedings* 39 (2021) 31–34
21. Barnes, D.K., Galgani, F., Thompson, R.C., Barlaz, M. (2009). Accumulation y fragmentation de desechos plastics in enterons globales. *Philos. Trans. R. Soc. B* 364.
22. Barbale, M., Chinaglia, S., Gazelle, A., Pichette, A., Poignant, M., Tocsin, M., & Degli-Innocenti, F. (2021). Hazard profiling of compostable shopping bags. Towards an ecological risk assessment of littering. *Polymer Degradation and Stability*, 188, 109592.
23. Benzertiha, A., Kieronczyk, B., Rawski, M., Józefiak, A., Kozłowski, K., Jankowski, J., Jozefiak, D. (2019). *Tenebrio molitor* and *Zophobas morio* Full-Fat Meals in Broiler Chicken Diets: Effects on Nutrients Digestibility, Digestive Enzyme Activities, and Cecal Microbiome. *Animals*, 9, 1128.
24. Brandon, A.M., Gao, S.-H., Tian, R., Ning, D., Yang, S.-S., Zhou, J., Wu, W.-M., Criddle, C.S., (2018). Biodegradation of Polyethylene and Plastic Mixtures in Mealworms (Larvae of *Tenebrio molitor*) and Effects on the Gut Microbiome. *Environ. Sci. Technol.* 52, 6526–6533. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b02301>.
25. Božek, M., Hanus-Lorenz, B. y Rybak, J. (2017). Los estudios de biodegradación de residuos por *Tenebrio molitor*. En E3S web de conferencias (Vol. 17, p. 00011). Ciencias EDP.
26. BS-8472:2011. Métodos para la evaluación de la oxo-biodegradación de plásticos y de la fitotoxicidad de los residuos en condiciones controladas de laboratorio
27. Bulak, P., Proc, K., Pytlak, A., Puszka, A., Gawdzik, B. y Bieganski, A. (2021). Biodegradación de diferentes tipos de plásticos por el insecto *Tenebrio molitor*. *Polímeros*, 13 (20), 3508.

28. Cadar, O., Paul, M., Roman, C., Miclean, M., & Majdik, C. (2012). Biodegradation behaviour of poly (lactic acid) and (lactic acid-ethylene glycol-malonic or succinic acid) copolymers under controlled composting conditions in a laboratory test system. *Polymer Degradation and Stability*, 97(3), 354-357.
29. Campoy P., Beiras R., (2019). Revisión: Efectos ecológicos de macro-, meso- y microplásticos. Proyecto REPESCAPLAS2. Actividad 4.3, 35 pp.
30. Campuzano, J. F., López, D. I., Álvarez, C. (2018). Normativas y regulaciones para polímeros biodegradables y compostables. *Tecnología del plástico*. <https://www.plastico.com/temas/Normativas-y-regulaciones-para-polimeros-biodegradables-y-compostables+126663>
31. Castellon, C.C, Tejada, L.L, Tejada, B.L. (2016). Evaluación de la degradación Ambiental de bolsas plásticas biodegradables. *Informador Técnico. Colombia. 80(1) enero - junio 2016: 24-31*.
32. Castro, H. F. y Bolívar G.W. (2010) Libro Rojo de los Anfibios del Valle del Cauca. Feriva Impresores SA. Cali – Colombia 200pp.
33. Centro de información Técnica. (2009). Plásticos Biodegradables, ¿qué son? y su relación con los RSU. Boletín Técnico Informativo Nº 25. Plastivida. Argentina.
34. Cuautle, M. M., y Buitron, M. G. (2019). *Industria química del plástico*. Instituto de Ingeniería. Universidad Nacional Autónoma de México. Querétaro, México.
35. Chaquilla-Quilca, G., Balandrán-Quintana, R. R., Mendoza-Wilson, A. M., & Mercado-Ruiz, J. N. (2018). Propiedades y posibles aplicaciones de las proteínas de salvado de trigo. *CienciaUAT*, 12(2), 137-147.
36. Chatge, S., Yang, Y., Ahn, J. H., & Hur, H. G. (2020). Biodegradation of polyethylene: A brief review. *Appl. Biol. Chem*, 63, 27.

37. Chinaglia, S., Tosin, M., & Degli-Innocenti, F. (2018). Biodegradation rate of biodegradable plastics at molecular level. *Polymer Degradation and Stability*, 147, 237-244.
38. Chandra, R. U. S. T. G. I., & Rustgi, R. (1998). Biodegradable polymers. *Progress in polymer science*, 23(7), 1273-1335.
39. Cucina, M., De Nisi, P., Trombino, L., Tambone, F., & Adani, F. (2021). Degradation of bioplastics in organic waste by mesophilic anaerobic digestion, composting and soil incubation. *Waste Management*, 134, 67-77.
40. Damborsky, M., Bar, T., Sandrigo, Y. P., Oscherov, E. (1999). Ciclo de Vida de *Tenebrio molitor* (Coleoptera, Tenebrionidae) en Condiciones Experimentales. UNNE. 6.
41. Dammak, M., Fourati, Y., Tarrés, Q., Delgado-Aguilar, M., Mutjé, P., & Boufi, S. (2020). Blends of PBAT with plasticized starch for packaging applications: Mechanical properties, rheological behaviour and biodegradability. *Industrial crops and products*, 144, 112061.
42. De Matos Costa, A. R., Crocitti, A., Hecker de Carvalho, L., Carroccio, S. C., Cerruti, P., & Santagata, G. (2020). Properties of biodegradable films based on poly (butylene succinate) (PBS) and poly (butylene adipate-co-terephthalate) (PBAT) blends. *Polymers*, 12(10), 2317.
43. Du YL, Cao Y, Lu F, et al. (2008) Biodegradation behaviors of thermoplastic starch (TPS) and thermoplastic dialdehyde starch (TPDAS) under controlled composting conditions. *Polymer Testing* 27: 924–930.
44. Emadian, S.M., Onay, T.T., Demirel, B., (2017). Biodegradation of bioplastics in natural environments. *Waste Manag.* 59, 526–536. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2016.10.006>
45. EN 13432:2000 Embalaje. Requisitos para los envases recuperables mediante compostaje y biodegradación. Esquema de ensayo y criterios de evaluación para la aceptación final de envases.

46. Eriksen, M., Lebreton, L.C.M., Carson, H.S., Thiel, M., Moore, C.J., Borroero, J.C., Galgani, F., Ryan, P.G., Reisser, J., (2014). Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. PLoS One 9, e111913. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913>
47. European Bioplastics, (2017). Bioplásticos europeos, *bioplásticos: hechos y cifras*.
48. Fabunmi, O. O., Tabil, L. G., Chang, P. R., & Panigrahi, S. (2006). Developing biodegradable plastics from starch. In ASABE/CSBE North Central Intersectional Meeting (p. 1). American Society of Agricultural and Biological Engineers.
49. Fernández, E. G., y Sánchez, O. (2019). Plástico modernidad y deterioro ambiental. Carpeta informativa. Número 120. CESOP. Centro de estudios sociales y de opinión pública.
50. Fernando de Fuentes, A. (2015). Análisis de la degradación, desintegración y biodegradabilidad de bolsas de poliéster y almidón en compostaje de residuos urbanos: escalas de laboratorio e industrial (Doctoral dissertation, ETSI_Mon_fos).
51. Flores, G. R. (2013). Diagnóstico de la industria del plástico en México. Informe de trabajo profesional grado licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México.
52. García-Depraect, O., Lebrero, R., Rodríguez-Vega, S., Bordel, S., Santos-Beneit, F., Martínez-Mendoza, L. J., & Muñoz, R. (2022). Biodegradation of bioplastics under aerobic and anaerobic aqueous conditions: Kinetics, carbon fate and particle size effect. *Bioresource Technology*, 344, 126265.
53. Gattin, R., Copinet, A., Bertrand, C., & Couturier, Y. (2002). Biodegradation study of a starch and poly (lactic acid) co-extruded material in liquid, composting and inert mineral media. *International biodeterioration & biodegradation*, 50(1), 25-31.
54. German, D. P., Chacon, S. S., & Allison, S. D. (2011). Substrate concentration and enzyme allocation can affect rates of microbial decomposition. *Ecology*, 92(7), 1471-1480.

55. Geyer, R. Kuczenski, B., Zink, T., Henderson, A. (2015). Conceptos erróneos comunes sobre el reciclaje. *J. Ind. Ecol.* 20.
56. Geyer R., Jambeck R. J., y Law K. L. (2017) Production, use, and fate of all plastics ever made. *Sci. Adv.* 3: e1700782
57. Gómez, P. C. y Sedano, J. R. (2019). Evaluación de la degradación y toxicidad de diferentes tipos de envases biodegradables comerciales sometidos a compost maduro y húmedo. Facultad de Ingeniería. Escuela Académico profesional de ingeniería Ambiental.
58. Gómez Paniagua, M. (2015). Compostabilidad de envases de bolsas de PBAT+ PLA y envases rígidos de PLA mediante tecnologías de pila y túnel (Doctoral dissertation, ETSI_Mon_fos).
59. Gongora, P.J. (2014). La industria del plástico en México y el mundo. *Comercio Exterior*, volumen 64, número 5.
60. González, P. M., Tamayo, B. M., Pulido, R. G., Amariei, A., Leganés, F., Rosal, R., Fernández, P. F. (2019). Secondary nanoplastics released from a biodegradable microplastic severely impact freshwater environments, *Environmental Science: Nano*, 6, 1382-1392.
61. Ghosh, S.K., y Ray, S. (2013). Estudio de microbes con potencial de biodegradación de plásticos. *Environ Sci Pollut Res* 20, 4339–4355. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1007/s11356-013-1706-x>
62. Greene, J. (2007). Biodegradation of compostable plastics in green yard-waste compost environment. *Journal of Polymers and the Environment*, 15(4), 269-273.
63. Gu, J.D. (2003). Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances. *Inter Biodete Biodeg* 52:69–91
64. Hanrahan, G. (2012). *Key Concepts in Environmental Chemistry*. Academic Press. California. USA.

65. Heidebreder, L.M., Bablok, I., Drews, S., Menzel, C., (2019). Tackling the plastic problem: A review on perceptions, behaviors, and interventions. *Sci. Total, Environ.* 668, 1077–1093. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.02.437>.
66. Horodytska, O., Valdés, F.J., Fullana, A., (2018). Plastic flexible films waste management – A state of art review. *Waste Manag.* 77, 413–425. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2018.04.023>
67. Huerta-Pujol, O., Soliva, M., Giró, F., & López, M. (2010). Heavy metal content in rubbish bags used for separate collection of biowaste. *Waste management*, 30(8-9), 1450-1456.
68. In-Hag, C., Jun-Hyup, L., y Tae-Ho, C. (2020). Biodegradacion de poliestireno usando *Z. morio*. *Journal of Entomology Research*. Vol. 44. No. 3. Pp. 475-478
69. Ingrao, C., Tricase, C., Cholewa-Wójcik, A., Kawecka, A., Rana, R., & Siracusa, V. (2015). Polylactic acid trays for fresh-food packaging: A Carbon Footprint assessment. *Science of the Total Environment*, 537, 385-398.
70. INN, 2016. NCh3508/1:2016. Determinación de la biodegradabilidad aeróbica final de materiales plásticos en condiciones de compostaje controladas - Método de análisis del dióxido de carbono generado- Parte 1: Método general, 1st ed. Santiago de Chile, Chile.
71. Intaraksa, P., Rudeekit, Y., Siriyota, P., & Leejarkpai, T. (2013). Comparative Study of the Bio-disintegration Behavior of Polylactic acid under Laboratory and Pilot-Scale Composting Conditions. In *Advanced Materials Research* (Vol. 747, pp. 678-681). Trans Tech Publications Ltd.
72. Iovino R, Zullo R, Rao MA, et al. (2008) Biodegradation of poly(lactic acid)/starch/coir biocomposites under controlled composting conditions. *Polymer Degradation and Stability* 93: 147–157.
73. ISO 14853:2005. Determinación de la biodegradación anaerobia total de materiales plásticos en sistemas acuosos – Método por medición de la producción de biogás.

74. ISO 14855-1:2012. Determinación de la biodegradabilidad aeróbica final de los materiales plásticos en condiciones de compostaje controladas. Método por análisis del dióxido de carbono desprendido. Parte 1: Método general.
75. ISO 14855-2:2018. Determinación de la biodegradabilidad última aeróbica de materiales plásticos bajo condiciones controladas de compostaje – Método por análisis de dióxido de carbono desprendido. Parte 2: Medición gravimétrica de dióxido de carbono desprendido en una prueba a escala laboratorio.
76. ISO 15985:2004. Determinación de la biodegradación anaerobia total y desintegración en condiciones de digestión anaerobia con alto contenido en sólidos – Método por análisis del biogás.
77. ISO 17556:2012. Determinación de la biodegradabilidad aerobia total de materiales plásticos en suelo mediante la medición de O₂ en un respirómetro o la masa generada de CO₂.
78. ISO 20200:2015. Plásticos-Determinación del grado de desintegración de materiales plásticos bajo condiciones simuladas de compostaje en prueba escala laboratorio.
79. ISO 17088:2021. Plásticos. Reciclaje orgánico. Especificaciones para plásticos compostables.
80. ISO 13975:2012. Determinación de la biodegradación anaerobia total de materiales plásticos en sistemas controlados de digestión de lodos – Método por medición de producción de biogás.
81. ISO 6341:2012. Calidad de agua. Determinación de la inhibición de la movilidad de *Daphnia magna straus* (*Cladocera*, Crustacea) – Pruebas de toxicidad aguda.
82. Jadaun, JS, Bansal, S., Sonthalia, A., Rai, AK y Singh, SP (2022). Biodegradación de plásticos para un medio ambiente sostenible. Tecnología de biorecursos, 126697.
83. Jaiswal, S., Sharma, B., Shukla, P. (2020) Integrated approaches in microbial degradation of plastics. Environmental Technology & Innovation 17.

84. Jian, J., Xiangbin, Z., & Xianbo, H. (2020). An overview on synthesis, properties and applications of poly (butylene-adipate-co-terephthalate)–PBAT. *Advanced Industrial and Engineering Polymer Research*, 3(1), 19-26.
85. Jiang, G., Wang, F., Zhang, S., & Huang, H. (2020). Structure and improved properties of PPC/PBAT blends via controlling phase morphology based on melt viscosity. *Journal of Applied Polymer Science*, 137(31), 48924.
86. Kaiser, J. P. (2001). Testing the performance and the disintegration of biodegradable bags for the collection of organic wastes. In *Macromolecular Symposia* (Vol. 165, No. 1, pp. 115-122). Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH.
87. Kale, G., Kijchavengkul, T., Auras, R., Rubino, M., Selke, S. E., & Singh, S. P. (2007). Compostability of bioplastic packaging materials: an overview. *Macromolecular bioscience*, 7(3), 255-277.
88. Kizil, R., Irudayaraj, J., & Seetharaman, K. (2002). Characterization of irradiated starches by using FT-Raman and FTIR spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(14), 3912-3918.
89. Krzan, J., Hemjinda, S., Miertus, S., Corti, A., Chiellini, E. (2006). Standardization and certification in the area of environmentally degradable plastics, *Polymer Degradation, and Stability*, 91(12), 2819–2833.
90. Leluk, K., Hanus-Lorenz, B., Rybak, J., Bożek, M., (2017). The effectiveness of the biodegradation of raw and processed polystyrene by mealworms. *E3S Web Conf.* 22, 00103. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20172200103>.
91. León, G. A. (2018). Un mundo plastificado. Propuesta de difusión sobre la contaminación del plástico proyecto para la UNESCO. Tesina de grado Licenciatura. Facultad de Ciencias Políticas. Universidad Nacional Autónoma de México.

92. Leroy, A., Ribeiro, S., Grossiord, C., Alves, A., Vestberg, R. H., Salles, V., & Bayon, Y. (2017). FTIR microscopy contribution for comprehension of degradation mechanisms in PLA-based implantable medical devices. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 28(6), 1-13.
93. López, A.J. (2008). Bioplásticos: efectos e impactos sobre la gestión de los envases. Congreso Nacional de medio ambiente. Cumbre del desarrollo sostenible. Comunicación técnica. Universidad Politécnica de Madrid-Catedra Ecoembes.
94. Lopez, R. J. (2014). Transformacion de materiales termoplásticos. IC Editorial. Primera edicion. Malaga, España.
95. Luengo, J. M. (2018). Bioplásticos de origen bacteriano: los polihidroxi-alcanoatos. *AmbioCiencias*, 16, 5-24. ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942
96. Massambe, J. C., dos Santos Alvarenga, K. A., Abreu, M. C., Junior, T. C. R., Rodrigues, L. G., & Tavares, D. C. (2019). Resíduos de polímeros naturais e artificiais decompostos com o uso de larvas de *Zophobas morio*. *Anais do Seminário Científico do UNIFACIG*, (5).
97. Miranda, S. J. (2005). Problemática de los residuos plásticos en la generación de basura en el Distrito Federal; el caso del PET. Tesis de grado Licenciatura. Facultad de Economía. Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal, México.
98. Menéndez, G.P. (2001). Ecología trófica de la comunidad de Anuros del parque Nacional Yasuní en la Amazonía Ecuatoriana. Tesis de grado licenciatura. Facultad de ciencias Exactas y naturales. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Quito-Ecuador.
99. Moreno, L.J., Ruiz, R. Y., Suárez, Z. A., y Nausa, G. G. (2019). Perspectivas del uso y producción de biopolímeros en Colombia. Tercer Encuentro Nacional de Semilleros de Investigación de Ingeniería Industrial (ENSIII)-2019.
100. Montañez-Supelano, N. D., Peña Ballesteros, D. Y., & Estupiñán Durán, H. A. (2016). Respuesta dieléctrica y bioquímica de un recubrimiento PLA-PGA-HAp-Quitosano-Colágeno sobre Ti6Al4V. *Ingeniare. Revista chilena de ingeniería*, 24(2), 215-227.

101. Munguía, C. D., Reyes, S. C., Ibarra, J. L., Zepeda, J. I. (2014). Uso de *Zophobas morio* (Coleoptera: Tenebrionidae) en reproducción y extracción de nematodos entomopatógenos. *Entomología Mexicana*, 1: 202-207.
102. Muthukumar, A. y Veerappapillai S. (2015). Biodegradation of Plastics: A Brief Review. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 31(2). No. 36, Pages: 204-209
103. Nandakumar, A., Chuah, J. A., & Sudesh, K. (2021). Bioplastics: a boon or bane?. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 147, 111237.
104. Norma Mexicana NMX-E273-NYCE-2019. Industria del plástico-plásticos compostables- Especificaciones y métodos de prueba.
105. Neri del Castillo, L. (2013). Estudio del efecto de fibras de polietileno de alta densidad (HDPE) reciclado como agentes de refuerzo en una matriz de polietileno de alta densidad (HDPE). Tesis de grado Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Universidad Nacional Autónoma de México.
106. Nicolín, A. E., y Rosas, M. C. (2005). Reciclado de residuos sólidos plásticos. Facultad de Estudios Superiores Cuatiltán. Universidad Nacional Autónoma de México.
107. OECD 201: Alga de agua dulce y cianobacterias, prueba de inhibición del crecimiento
108. OECD 207: Lombrices de tierra, pruebas de toxicidad aguda
109. OECD 208: Prueba de plantas terrestres: Prueba de emergencia y crecimiento de plántulas.
110. Orsini, S. M. D., & Aparicio, G. P. P. (2021). Espectroscopia de infrarrojo con transformada de fourier (FT-IR) para análisis de muestras de harina de trigo, fécula de maíz y almidón de yuca. @ limentech, *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 19(1), 5-16.

111. Ortiz, M. L. (2009). Aproximaciones a la comprensión de la degradación de la lignina. *Orinoquia*, 13(2), 137-144.
112. Paragkumar, T. N., Edith, D., & Jean-Luc, S. (2006). Surface characteristics of PLA and PLGA films. *Appl. Surf. Sci.*, 253, 2758-2764.
113. Peng, B.-Y., Su, Y., Chen, Z., Chen, J., Zhou, X., Benbow, M.E., Criddle, C.S., Wu, W.-M., Zhang, Y., (2019). Biodegradation of Polystyrene by Dark (*Tenebrio obscurus*) and Yellow (*Tenebrio molitor*) Mealworms (Coleoptera: Tenebrionidae). *Environ. Sci. Technol.* 53, 5256–5265. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06963>
114. Peng, BY, Chen, Z., Chen, J., Zhou, X., Wu, WM y Zhang, Y. (2021). Biodegradación de ácido poliláctico por gusanos amarillos de la harina (larvas de *Tenebrio molitor*) a través de la recuperación de recursos: un enfoque sostenible para la gestión de residuos. *Diario de materiales peligrosos*, 416, 125803.
115. Peng, BY, Chen, Z., Chen, J., Yu, H., Zhou, X., Criddle, CS, y Zhang, Y. (2020a). Biodegradación de cloruro de polivinilo (PVC) en larvas de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Medio ambiente internacional*, 145, 106106.
116. Peng, B.-Y., Li, Y., Fan, R., Chen, Z., Chen, J., Brandon, AM, ... Wu, W.-M. (2020b). Biodegradación de polietileno de baja densidad y poliestireno en supergusanos, larvas de *Zophobas atratus* (Coleoptera: Tenebrionidae): Despolimerización amplia y limitada. *Contaminación ambiental*, 115206. doi:10.1016/j.envpol.2020.115206
117. Petinakis, E., Liu, X., Yu, L., Way, C., Sangwan, P., Dean, K., ... & Edward, G. (2010). Biodegradation and thermal decomposition of poly (lactic acid)-based materials reinforced by hydrophilic fillers. *Polymer Degradation and Stability*, 95(9), 1704-1707.
118. Plastics Europe. (2018). *Plastics-The Facts 2018. An analysis of European plastics production, demand and waste data*. Bruselas, Bélgica.

119. Plastics Europe. (2019). Plásticos-situación en 2019. Un análisis de los datos sobre la producción, demanda y residuos de los plásticos en Europa. Madrid, España.
120. Polman, E. M., Gruter, G. J. M., Parsons, J. R., & Tietema, A. (2021). Comparison of the aerobic biodegradation of biopolymers and the corresponding bioplastics: A review. *Science of the Total Environment*, 753, 141953.
121. Palsikowski, P. A., Roberto, M. M., Sommaggio, L. R., Souza, P., Morales, A. R., & Marin-Morales, M. A. (2018). Ecotoxicity evaluation of the biodegradable polymers PLA, PBAT and its blends using *Allium cepa* as test organism. *Journal of Polymers and the Environment*, 26(3), 938-945.
122. Ramos E. J., Pino M.J., Angeles, C.S., y García, A. P. (2012). Análisis comparativo del valor nutritivo de *Zophobas morio* Fabricius 1776 y su uso actual en la alimentación de animales de compañía. XLVII Congreso Nacional de Entomología y Primer Congreso Latinoamericano de Acarología. Sociedad Mexicana de Entomología y Sociedad Latinoamericana de Acarología. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, Puebla, México.
123. Rana, AK, Thakur, MK, Saini, AK, Mokhta, SK, Moradi, O., Rydzkowski, T., y Thakur, VK (2022). Desarrollos recientes en la degradación microbiana del polipropileno: enfoques integrados hacia un medio ambiente sostenible. *Ciencia del Medio Ambiente Total*, 826, 154056.
124. RaziyaFathima M., Praseetha P.K., Rimal Isaac R.S. (2016). Microbial degradation of plastic waste: a review. *J. Pharma. Chem. Biol. Sci.* 4. págs.231 – 242
125. Ritchie H. y Roser M. (2018) - "Contaminación plástica". Publicado en línea en OurWorldInData.org. Obtention de: '<https://ourworldindata.org/plastic-pollution>
126. Rodríguez, A. (2012). Biodegradabilidad de materiales bioplásticos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos Vol. 22, No. 3.*

127. Rudeekit, Y., Siriyota, P., Intaraksa, P., Chaiwutthinan, P., Tajan, M., & Leejarkpai, T. (2012). Compostability and Ecotoxicity of Poly (lactic acid) and Starch Blends. In advanced materials research (Vol. 506, pp. 323-326). Trans Tech Publications Ltd.
128. Rudnik, Ewa. (2019). Compostable polymer materials. Elsevier. Segunda edición. <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=xh0tBAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=rudnik+2019+polymer+materials&ots=WHpTfwexDp&sig=C2jxalk3CnKiBurXMnKhAg5leCA#v=onepage&q=rudnik%202019%20polymer%20materials&f=false>
129. Ruggero, F., Gori, R., & Lubello, C. (2019). Methodologies to assess biodegradation of bioplastics during aerobic composting and anaerobic digestion: A review. *Waste Management & Research*, 37(10), 959-975.
130. Sanchez, G. V. (2014). Cuantificación de bolsas de plástico en residuos sólidos urbanos. Proyecto de Integración de Ingeniería Ambiental. Universidad Autónoma Metropolitana Azcapotzalco. México.
131. Sánchez-Bayo, F., van den Brink, P.J., Mann, R. M., Belzunce, M. J., Borja, A., Breure, T., van Dam, J. W., Garmendia, J. M., Hanson, M. L., Hollander, A., Hylland, K., Jackson, C.R. Kröger, R., Liess, M., van de Meent, D., Moore, M.T., Mueller, J.F., Negri, A. P., Peijnenburg, WJGM., Rodríguez, J.R., Schäfer, R. B., Sibley, P. K., Solaun, O., Thompson, D. G., Uthicke, S., Vijver, M. G., Vethaak, A. D. & Zorita, I. (2011). *Ecological Impacts of Toxic Chemicals* Edited by: F Sánchez-Bayo, PJ van den Brink and RM Mann. IL, USA: Bentham Science Publishers Ltd. isbn:978-1-60805-121-2. doi: 10.2174/97816080512121110101
132. Sarasa, J., Gracia, J. M., & Javierre, C. (2009). Study of the biodisintegration of a bioplastic material waste. *Bioresource technology*, 100(15), 3764-3768.
133. Sarmiento, A.P. (2018). Establecimiento e implementación de un protocolo de cría de gusano de harina *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) como apoyo al programa de conservación de la rana venenosa dorada *Phyllobates terribilis* (Anura: Dendrobatidae) en el bioparque Wakatá, Parque Jaime Duque. Título de grado Zootecnista. Escuela de Ciencias

Agrícolas, Pecuarias y del Medio Ambiente ECAPMA Universidad Nacional Abierta y a Distancia. UNAD. Zipaquirá, Colombia.

134. Siriyota, P., Rudeekit, Y., Intaraksa, P., Chaiwutthinan, P., Tajan, M., & Leejarkpai, T. (2012). Study of the Disintegration of Poly (butylene adipate-co-terephthalate) and Starch Co-Extruded Materials. In *Advanced Materials Research* (Vol. 506, pp. 331-334). Trans Tech Publications Ltd.
135. Schulte, R. (1999). El manejo de *Zophobas Morio* (Coleoptera: Tenebrionidae) en climas tropicales húmedos. *Folia Amazonica*. Vol. 8(2).
136. Valero-Valdivieso, M. F., Ortigón, Y., & Uscategui, Y. (2013). Biopolímeros: avances y perspectivas. *Dyna*, 80(181), 171-180.
137. Vaverková, M., Toman, F., Adamcová, D., & Kotovicová, J. (2012). Study of the biodegradability of degradable/biodegradable plastic material in a controlled composting environment. *Ecological Chemistry and Engineering*, 19(3), 347.
138. Vázquez, M. A., Velasco, P. M., Espinoza, V. R., Beltrán, V. M. (2014). Bioplásticos y plásticos degradables. 10.13140/RG.2.1.1294.4241. UAM Azcapotzalco y la Asociación Nacional de Industrias del Plástico, A. C. (ANIPAC). <http://www.anipac.com/bioplasticos.pdf>
139. Vázquez M. A., Sotelo N. P., Espinosa V. R., Velasco P. M., Qhecholac P. X., Beltran V. M., Álvarez Z. J., (2018). Degradación y biodegradación de plástico. Asociación Nacional de la Industria Química. Comisión de la Industria del Plástico. Responsabilidad y desarrollo sostenible.
140. Tabasi, R. Y., & Aji, A. (2015). Selective degradation of biodegradable blends in simulated laboratory composting. *Polymer Degradation and Stability*, 120, 435-442.
141. Taller ecologista. (2008). *¿Bolsas biodegradables?* Área de Residuos. Buenos Aires, Argentina.

142. Tang, Z.-L., Kuo, T.-A., Liu, H.-H., 2017. The Study of the Microbes Degraded Polystyrene, Advances in Technology Innovation.
143. Tarazona, J. V., Sobanski, M. A., Cesnaitis, R., Sobanski, T., Bonnomet, V., Versonnen, B., Coen, W. (2014). Analysis of the Ecotoxicity data submitted within the framework of the REACH Regulation. Part 2. Experimental aquatic toxicity assays. *Sci. Total, Environ.*, 472, 137–145.
144. Truhaut, R. (1977). Ecotoxicology: objectives, principles and perspective. *Ecotoxicol Environ Saf.* 1(2) ,151-73.
145. Wang, Y., & Xie, W. (2010). Synthesis of cationic starch with a high degree of substitution in an ionic liquid. *Carbohydrate Polymers*, 80(4), 1172-1177.
146. Weng, Y. X., Jin, Y. J., Meng, Q. Y., Wang, L., Zhang, M., & Wang, Y. Z. (2013). Biodegradation behavior of poly (butylene adipate-co-terephthalate)(PBAT), poly (lactic acid)(PLA), and their blend under soil conditions. *Polymer Testing*, 32(5), 918-926.
147. Wu, Q., Tao, H., Wong, M.H. (2019). Feeding and metabolism effects of three common microplastics on *Tenebrio molitor* L. *Environ. Geochem. Health* 41, 17–26. <https://doi.org/10.1007/s10653-018-0161-5>
148. Yang, J., Yang, Y., Wu, W.-M., Zhao, J., Jiang, L., (2014). Evidence of Polyethylene Biodegradation by Bacterial Strains from the Guts of Plastic-Eating Waxworms. *Environ. Sci. Technol.* 48, 13776–13784. <https://doi.org/10.1021/es504038a>
149. Yang, S.-S., Brandon, A.M., Andrew Flanagan, J.C., Yang, J., Ning, D., Cai, S.-Y., Fan, H.-Q., Wang, Z.-Y., Ren, J., Benbow, E., Ren, N.-Q., Waymouth, R.M., Zhou, J., Criddle, C.S., Wu, W.-M., (2018). Biodegradation of polystyrene wastes in yellow mealworms (larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus): Factors affecting biodegradation rates and the ability of polystyrene-fed larvae to complete their life cycle. *Chemosphere* 191, 979–989. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2017.10.117>

150. Yang, Y., Yang, J., Wu, W.-M., Zhao, J., Song, Y., Gao, L., Yang, R., Jiang, L., (2015a). Biodegradation and Mineralization of Polystyrene by Plastic-Eating Mealworms: Part 2. Role of Gut Microorganisms. *Environ. Sci. Technol.* 49, 12087–12093. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02663>
151. Yang, Y., Yang, J., Wu, W.-M., Zhao, J., Song, Y., Gao, L., Yang, R., Jiang, L., (2015b). Biodegradation and Mineralization of Polystyrene by Plastic-Eating Mealworms: Part 1. Chemical and Physical Characterization and Isotopic Tests. *Environ. Sci. Technol.* 49, 12080–12086. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02661>.
152. Yang, S.-S., Brandon, AM, Andrew Flanagan, JC, Yang, J., Ning, D., Cai, S.-Y., ... Wu, W.-M. (2018). Biodegradación de desechos de poliestireno en gusanos amarillos de la harina (larvas de *Tenebrio molitor* Linnaeus): factores que afectan las tasas de biodegradación y la capacidad de las larvas alimentadas con poliestireno para completar su ciclo de vida. *Chemosphere*, 191, 979–989
153. Yang, S.S., y Wu, WM (2020). Biodegradación de plásticos del género *Tenebrio* (gusanos de la harina). *Microplásticos en Ambientes Terrestres*, 385-422.
154. Yang, S.S., Ding, M.-Q., He, L., Zhang, C.-H., Li, Q.-X., Xing, D.-F., ... Wu, W. - METRO. (2020a). Biodegradación de polipropileno por gusanos amarillos de la harina (*Tenebrio molitor*) y supergusanos (*Zophobas atratus*) a través de la despolimerización dependiente de microbios intestinales. *Ciencia del Medio Ambiente Total*, 144087.
155. Yang, L., Gao, J., Liu, Y., Zhuang, G., Peng, X., Wu, W.-M., & Zhuang, X. (2020b). Biodegradation of expanded polystyrene and low-density polyethylene foams in larvae of *Tenebrio molitor* Linnaeus (Coleoptera: Tenebrionidae): broad versus limited extent depolymerization and microbe-dependence versus independence. *Chemosphere*, 127818.
156. Yang, S. L., Wu, Z. H., Yang, W., & Yang, M. B. (2008). Thermal and mechanical properties of chemical crosslinked polylactide (PLA). *Polymer Testing*, 27(8), 957-963.

157. Wang, J., Wang, Y., Li, X., Weng, Y., Dong, X. y Zhao, X. (2022). Comparación de la eficacia de la transformada infrarroja de Fourier (FT-IR) y la transformada infrarroja de Fourier de reflexión total atenuada (ATR-FT-IR) en la caracterización de la biodegradación de plásticos por larvas de insectos. *Ciencia del Medio Ambiente Total*, 156289.
158. Wu, W. M., & Criddle, C. S. (2021). Characterization of biodegradation of plastics in insect larvae. In *Methods in Enzymology* (Vol. 648, pp. 95-120). Academic Press.
159. Zink, T., Geyer, R., Startz, D. (2017). Hacia la estimación de la producción desplazada del reciclaje: un estudio de caso de aluminio de EE. UU. *J. Ind. Ecol.* 10.1111 / jiec.12557