



El Colegio de la Frontera Sur

Evaluación de polímeros en pseudotallos de *Musa acuminata* AAA, *Musa sapientum* ABB y *Musa paradisiaca* AAB para elaboración de bioplástico

Tesis
presentada como requisito parcial para optar al grado de
Maestra en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural
Con orientación en Biotecnología Ambiental

Por

Carolina Jiménez Coello

2017

 **DEDICATORIA** 

A Rome,

esta Maestría es por ti.

Si la vida da un cambio de rumbo

conocerás otros lugares que también pueden ser maravillosos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), a El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR) y al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, A.C.), por su apoyo y patrocinio para la realización de este proyecto de tesis de maestría.

Agradezco a mi Directora de tesis, Dra. María de los Ángeles Calixto Romo, por confiar en mí, por permitirme ser parte de su grupo de trabajo, por brindarme gran parte de sus conocimientos, por proporcionarme todo el apoyo necesario para que este proyecto se culminara de la mejor manera y por hacer de mí una mejor estudiante.

Agradezco a mis Asesoras; Dra. Herlinda Soto Valdez, gracias por sus conocimientos, por su apoyo y por ser parte importante en mis proyectos profesionales y Dra. Griselda Karina Guillén Navarro, gracias por su apoyo para la realización de este proyecto.

A mis sinodales; Dr. Edi Álvaro Malo Rivera, M.C. David Herrera López y M.C. Luz Verónica García Fajardo, por su tiempo y apoyo para realizar la evaluación del proyecto de tesis, por sus conocimientos y por brindarme su amistad.

Además agradezco al M.C. Raúl Cuevas González, por su apoyo técnico en las salidas de campo, al M.C. Jesús Alejandro Zamora Briseño, por la donación del hongo *Phanerochaete chysosporium*, a la M.C. Guadalupe Nieto, por su apoyo técnico en el Laboratorio de Microscopía de ECOSUR, a la M.C. Elizabeth Peralta, por brindarme su apoyo en el Laboratorio de Envases de CIAD. A.C. y a la M.C. Guadalupe Albarrán por su apoyo en el Laboratorio de Biotecnología ambiental de ECOSUR, por brindarme su amistad y darme hogar en los últimos meses de todo este proceso, Muchas gracias “Jefa”. A Ana María Galindo, por su apoyo en la biblioteca y por su amistad. A Bety y Anaí, por apoyarme en todo el proceso administrativo y su amistad. A todos gracias por la paciencia y por sus conocimientos compartidos procurando mi formación profesional.

A mis profesores y compañeros de maestría por la confianza, apoyo y dedicación de tiempo a lo largo de mi formación en esta etapa, por haber compartido conmigo sus conocimientos y sobre todo su amistad.

Agradezco infinitamente a mi Padre Romeo, que me acompañó en todo este tiempo, gracias por apoyarme, por creer en mí, y por demostrarme que puedo contar contigo incondicionalmente. ¡Muchas Gracias Pa!

A mi Madre María Elena, porque con su ayuda, consejos y esfuerzo, pude realizar este proyecto, gracias por dejarme cumplir este sueño y demostrarte que lo cumplí satisfactoriamente. ¡Muchas Gracias Ma!

Agradezco infinitamente a mis hermanos Romeo y Gabriela, por ser mi motor, por tener todo el apoyo necesario, emocional y económico, gracias por el tiempo y por todo el amor que me dan, gracias por sus regaños, por ser mi fortaleza en mis momentos de debilidad y por ser parte de los momentos más importantes de mi vida.

A mis abuelos, tíos y primos, gracias por su apoyo y ser parte de esta etapa que se culmina satisfactoriamente.

Agradezco a mis compañeros y amigos; a las viejas Lili, Mae y Stephy, y a los chamacos Gabo, Orochi, Will, Wilmar, Elvis, Obed y Kevin, que hicieron de estos dos años una experiencia inolvidable, por ofrecerme sus consejos, por brindarme todo el apoyo necesario para que este proyecto saliera adelante y por hacer más amena mi estancia en Tapachula. Gabo nunca olvidare lo que me hiciste con "Las lonas", sabes que siempre te odiare. #TodoesculpadeCaro.

Agradezco a mi amiga y compañera, Carla, por ser mi roomie, por brindarme tu amistad, confianza y ser parte de esta experiencia, gracias por estar en las buenas y en las malas, gracias por tus consejos, por tu ayuda, por confiar en mí y por abrirme las puertas de tu casa en momentos difíciles. A veces es bueno hacer locuras, ya ni quien nos ayude. ¡Te quiero manita!

A Brenda, Esther y Vane, gracias por todo el tiempo que me han dedicado, por todos sus consejos, por demostrarme que puedo confiar en ustedes, por ayudarme en los momentos más difíciles y gracias por esos momentos inolvidables. ¡Siempre seremos las vacías! Gracias por todo.

A Yaima y Enis, por ser mis roomies, por brindarme incondicionalmente todo su apoyo y amistad, por ser cochinas y momias a la vez, por pasar conmigo momentos inolvidables, gracias por hacer que mi estancia en Hermosillo fuera la mejor. ¡Las quiero mis cubanas locas!

A Dianita y Yubia, por todo su apoyo en el laboratorio, por su confianza y gran amistad, porque sin ustedes esto no se habría podido culminar. Gracias por cuidarme después de la gran quemada, ¡Las quiero!.

A mi mejor amiga de todo el mundo mundial, Brianda, aunque de nuevo los estudios nos volvieron a separar, seguimos siendo tan amigas, tan hermanas. Gracias por estar conmigo incondicionalmente en esta segunda vuelta, gracias por ser mi confidente, por todos tus regaños y jalones de oreja, por darme todas las fuerzas necesarias para seguir adelante y por ser una parte muy importante de mi vida. Gracias

por llevarme al mar cuando más lo necesitaba (top secret). Gracias mi gorda preciosa hermosa ¡Te adoro mi Bri!.

A mi segunda familia, Doña Irma, por preocuparse por mi bienestar, por abrirme las puertas de su casa, por cuidarme y por considerarme parte de su familia, a Doña Socorrito, Doña Yolanda y Doña Graciélita, por estar pendientes de mí, por demostrarme que puedo contar con ustedes y por brindarme todo su apoyo, gracias por sus consejos y por decirme palabras de aliento cuando más lo necesite. A Orlando, gracias por toda tu ayuda.

Y a mí Jota, mi gordito, por ser parte importante de esta aventura, por demostrarme en algunos momentos tu alegría y orgullo hacía mí, gracias por todo tu apoyo, gracias por estar conmigo en las buenas y en las malas, por motivarme a seguir adelante en los momentos de desesperación, gracias por tu paciencia, comprensión y sobre todo gracias por tu amor incondicional, por brindarme momentos inolvidables, por el tiempo de espera y por permitirme estar cerca de ti a pesar de la distancia. Gracias por ser mi compañero de vida en estos 3 años. ¡Te amo!

¡Muchas Gracias!

Siempre parece imposible hasta que se hace.

-Nelson Mandela-

ÍNDICE

I. Título	1
II. Resumen.....	1
III. Introducción	2
IV. Antecedentes.....	7
4.1 Plásticos biodegradables	7
4.2 Polímeros naturales	8
4.3 Obtención de polímeros naturales.....	8
4.3.1 Almidón	10
4.3.1.1 Polímeros termoplásticos.....	12
4.3.1.1.1 Almidón termoplástico	13
4.3.2 Celulosa	14
4.3.3 Lignina	14
4.4. Principales métodos de extracción de polímeros naturales	15
4.4.1 Extracción de almidón.....	16
4.4.2 Extracción de celulosa	17
4.4.2.1 Eliminación de lignina	18
4.4.3.1 Hongo de pudrición blanca: <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	19
4.4.3.2 Producción de enzimas ligninolíticas	20
4.4.3.2.1 Lignino-peroxidasa (LiP)	21
4.4.3.2.2 Manganeseo-peroxidasas (MnP)	22
4.4.3.2.3 Lacasas.....	23
4.5 Materia prima para la obtención de polímeros naturales: Plátano.....	24
4.6 Biocompuestos: Materiales compuestos	26
4.7 Tecnologías de procesamiento: Extrusión	26
4.7.1 Extrusión de Biocompositos: TPS con aditivos (Celulosa).....	27
4.8 Características de los plásticos	28
4.9 Estudios realizados con materiales compuestos.....	29
V. Justificación	32
VI. Pregunta de investigación.....	32
VII. Hipótesis.....	32
VIII. Objetivo	33
IX. Objetivos específicos.....	33

X.	Metodología	34
10.1	Materia prima	34
10.1.1	Pseudotallo de plátano (<i>Musa acuminata</i> AAA, <i>Musa paradisiaca</i> AAB y <i>Musa sapientum</i> ABB)	34
10.2	Determinación de componentes lignocelulósicos y almidón	34
10.2.1	Determinación de lignina.....	35
10.2.2	Determinación de holocelulosa	36
10.2.3	Determinación de celulosa.....	36
10.2.4	Determinación de hemicelulosa	37
10.2.5	Determinación de almidón	37
10.3	Producción del hongo <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	37
10.4	Producción de extracto enzimático.....	38
10.4.1	Cuantificación de proteínas.....	39
10.4.2	Procedimiento para la cuantificación de proteínas.....	40
10.4.3	Determinación de la actividad enzimática de Lignino-peroxidasas	40
10.5	Obtención del bioplástico	41
10.5.1	Obtención de almidón de pseudotallo de plátano (<i>Musa sapientum</i> ABB)...	42
10.5.2	Obtención de celulosa de pseudotallo de plátano (<i>Musa acuminata</i> AAA)..	43
10.6	Determinación de humedad (almidón y celulosa).....	44
10.7	Combinación de polímeros.....	45
10.7.1	Condiciones preliminares y óptimas de procesamiento de bioplástico	45
10.8	Propiedades mecánicas y ópticas	48
10.9	Espectrometría Infrarroja con Transformadas de Fourier (IR-FT)	49
10.10	Microscopio Electrónico de Barrido.....	49
10.11	Prueba de biodegradabilidad	49
XI.	Resultados y discusión	50
11.1	Componentes lignocelulósicos presentes en pseudotallo de plátano	50
11.2	Cultivo de hongo <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	52
11.3	Determinación de lignina.....	53
11.4	Rendimiento y porcentaje de humedad de los polímeros.....	54
11.5	Combinación de polímeros.....	56
11.5.1	Condiciones óptimas de procesamiento y obtención de biopelícula	56
11.6	Propiedades mecánicas y ópticas.....	58

11.7 Propiedades ópticas.....	61
11.8 Espectrometría infrarroja con Transformadas de Fourier (IR-FT)	64
11.9 Microscopio electrónico de barrido.....	67
11.10 Prueba de biodegradabilidad.....	69
XII. Conclusiones	71
XIII. Recomendaciones	72
XIV. Perspectivas	73
XV. Literatura citada	74
XVI. Anexos.....	84
16.1 Tablas IR-FT	84
16.2 Pruebas preliminares para la obtención del bioplástico	86
16.3 Artículo científico	88

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de la planta de plátano.....	3
Tabla 2. Composición química del pseudotallo de plátano.....	5
Tabla 3. Polímeros presentes en principales residuos.....	9
Tabla 4. Métodos de extracción de polímeros.....	16
Tabla 5. Composición química de pseudotallo de plátano.....	25
Tabla 6. Propiedades mecánicas de plásticos comerciales.....	29
Tabla 7. Condiciones ópticas de crecimiento de <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	38
Tabla 8. Volumen de soluciones para actividad enzimática (µl).....	40
Tabla 9. Condiciones óptimas para la obtención de bioplástico.....	46
Tabla 10. Determinación de lignina presente en la celulosa del pseudotallo de <i>Musa acuminata</i> AAA.....	53
Tabla 11. Composición de biopelículas.....	56
Tabla 12. Propiedades mecánicas de biopelículas.....	58
Tabla 13. Estudios realizados.....	60
Tabla 14. Color de las biopelículas.....	61
Tabla 15. Espesores de las biopelículas.....	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Partes de planta de plátano.....	4
Figura 2. Componentes de la pared celular (Celulosa, hemicelulosa, lignina y almidón).....	9
Figura 3. Estructura del almidón.....	10
Figura 4. Gránulos de almidón de maíz.....	11
Figura 5. Estructura reticulada de almidón, ácido cítrico y glicerina (plastificante)....	12
Figura 6. Estructura de la celulosa.....	14
Figura 7. Estructura de la lignina.....	15
Figura 8. <i>Phanerochaete chrysosporium</i> en Agar Papa Dextrosa (PDA).....	20
Figura 9. Ciclo de degradación de compuestos lignocelulósicos.....	21
Figura 10. Estructura de la enzima LiP en <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	22
Figura 11. Estructura de MnP en <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	23
Figura 12. Estructura de lacasa en <i>Trametes versicolor</i>	24
Figura 13. Extrusor monohusillo.....	27
Figura 14. Esquema pseudotallo de plátano (Medidas y cortes).....	35
Figura 15. Placa inoculada con esporas de <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	38
Figura 16. Matraces inoculados con <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	39
Figura 17. Extractos enzimáticos de <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	39
Figura 18. Diagrama de flujo “Proceso obtención de bioplástico”.....	41
Figura 19. Pseudotallo de <i>Musa sapientum</i> AAA picado.....	42
Figura 20. Almidón seco.....	42
Figura 21. Inoculación con <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	43
Figura 22. Celulosa de <i>Musa acuminata</i> AAA con extracto enzimático de <i>Phanerochaete chrysosporium</i> incubado por 48 h.....	44

Figura 23. Almidón de <i>Musa sapientum</i> ABB (a) y celulosa de <i>Musa acuminata</i> AAA (b) en estado seco.....	44
Figura 24. Diagrama general para la obtención de bioplástico.....	47
Figura 25. Compuestos lignocelulósicos y almidón presentes en <i>Musa acuminata</i> AAA, <i>Musa paradisiaca</i> AAB y <i>Musa sapientum</i> ABB presentes en el Estado de Chiapas.....	50
Figura 26. Combinación de polímeros. Almidón “ <i>Musa sapientum</i> ABB” y Celulosa “ <i>Musa acuminata</i> AAA”.....	51
Figura 27. Dinámica de la producción de proteínas de <i>Phanerochaete chrysosporium</i> en salvado de trigo (Método de Bradford).....	52
Figura 28. Dinámica de la actividad enzimática de LiP de <i>Phanerochaete chrysosporium</i> en salvado de trigo.....	52
Figura 29. Gránulos de almidón de pseudotallo de <i>Musa sapientum</i> ABB (MEB).....	54
Figura 30. Fibra de pseudotallo de <i>Musa acuminata</i> AAA (MEB).....	55
Figura 31. Combinación de polímeros. Almidón de <i>Musa sapientum</i> ABB y celulosa de <i>Musa acuminata</i> AAA (MEB).....	55
Figura 32. Proceso de extrusión.....	57
Figura 33. Diferencia de color entre biopelículas. a). Almidón de maíz, b). Almidón de maíz y celulosa de pseudotallo de plátano y c). Almidón y celulosa de pseudotallo de plátano.....	62
Figura 34. Barrido espectral UV-VIS de biopelículas AM, AMCP, AP y ACP.....	63
Figura 35. Espectro IR-FT de biopelículas AM, AMCP, AP, ACP, almidón de maíz, almidón y celulosa de pseudotallo.....	65
Figura 36. Fotografías MEB de biopelículas AM, AMCP, AP y ACP.....	68
Figura 37. Prueba de biodegradabilidad (30-53 días).....	70

I. Título

Evaluación de polímeros presentes en pseudotallos de *Musa acuminata* AAA, *Musa sapientum* ABB y *Musa paradisiaca* AAB para la elaboración de bioplástico.

II. Resumen

En el presente trabajo se utilizaron como materias primas pseudotallos de plátano (*Musa acuminata* AAA y *Musa sapientum* ABB) para la obtención de biopolímeros (almidón y celulosa). Los polímeros naturales se extrajeron principalmente por procesos húmedos, secos; y enzimáticos para eliminar compuestos aromáticos (lignina), ya que los procedimientos químicos generan residuos, que ponen en desventajas a los tratamientos fisicoquímicos. Después de obtener los polímeros naturales del pseudotallo se procedió a generar un biocompuesto, utilizando una combinación de polímeros (almidón termoplástico 65% y celulosa 5%). Se utilizó el método de extrusión, con el cual se formó una película plástica, esta película se evaluó para determinar finalmente las propiedades mecánicas y ópticas como tensión, espesor, elasticidad, color y opacidad. Adicionalmente el bioplástico fue evaluado mediante IR-FT y microscopía electrónica de barrido con la finalidad de caracterizar químicamente el producto y conocer las características de la combinación de polímeros. Los resultados obtenidos sugieren que el material obtenido cumple con características para ser una opción natural, abundante y económica para elaborar un bioplástico.

Palabras clave: Bioplástico, pseudotallo, polímeros, *Phanerochaete chrysosporium*, extracto enzimático.

III. Introducción

Los problemas ambientales tales como la contaminación de agua, suelo y aire, traen consigo impactos desfavorables a los ecosistemas, es por eso que se han buscado tecnologías aplicadas para cambiar el manejo de recursos naturales. Uno de los problemas presentes a nivel mundial es el uso de plásticos derivados del petróleo y combustibles fósiles (alrededor del 5% de petróleo es utilizado para la producción de plásticos tradicionales) siendo por definición productos no sustentables y causantes de un impacto ambiental severo, debido a que generan desechos sólidos de baja degradabilidad (Tharanathan, 2003). Debido a esto se han impulsado alternativas buscando biopolímeros naturales, para aprovechar los recursos naturales como fuente de nuevos productos e investigando que estos sean reciclables y biodegradables (Villada *et al.*, 2007).

La aplicación de nuevas tecnologías para evitar el uso convencional de plásticos derivados de combustibles fósiles han permitido la obtención de productos a partir de polímeros naturales como el almidón, celulosa, glucógeno, quitina, lignina, entre otros.

Los bioplásticos que se encuentran actualmente en el mercado son formados con ácido poliláctico (PLA) los cuales provienen principalmente del maíz, trigo o de cualquier fuente de almidón. La principal desventaja de la obtención del PLA es que provienen de vegetales que podrían ser empleados para consumo humano. Por este motivo es importante seguir buscando nuevas fuentes naturales para la obtención de polímeros.

El desarrollo y la implementación de materiales amigables con el ambiente, involucra la reducción sustancial del impacto generado por los polímeros derivados del petróleo. Los bioplásticos difícilmente podrán desplazar a los ya existentes (sintéticos), pero si minimizar su uso y presentarse como una alternativa sustentable con distintas aplicaciones (Hernández, 2013).

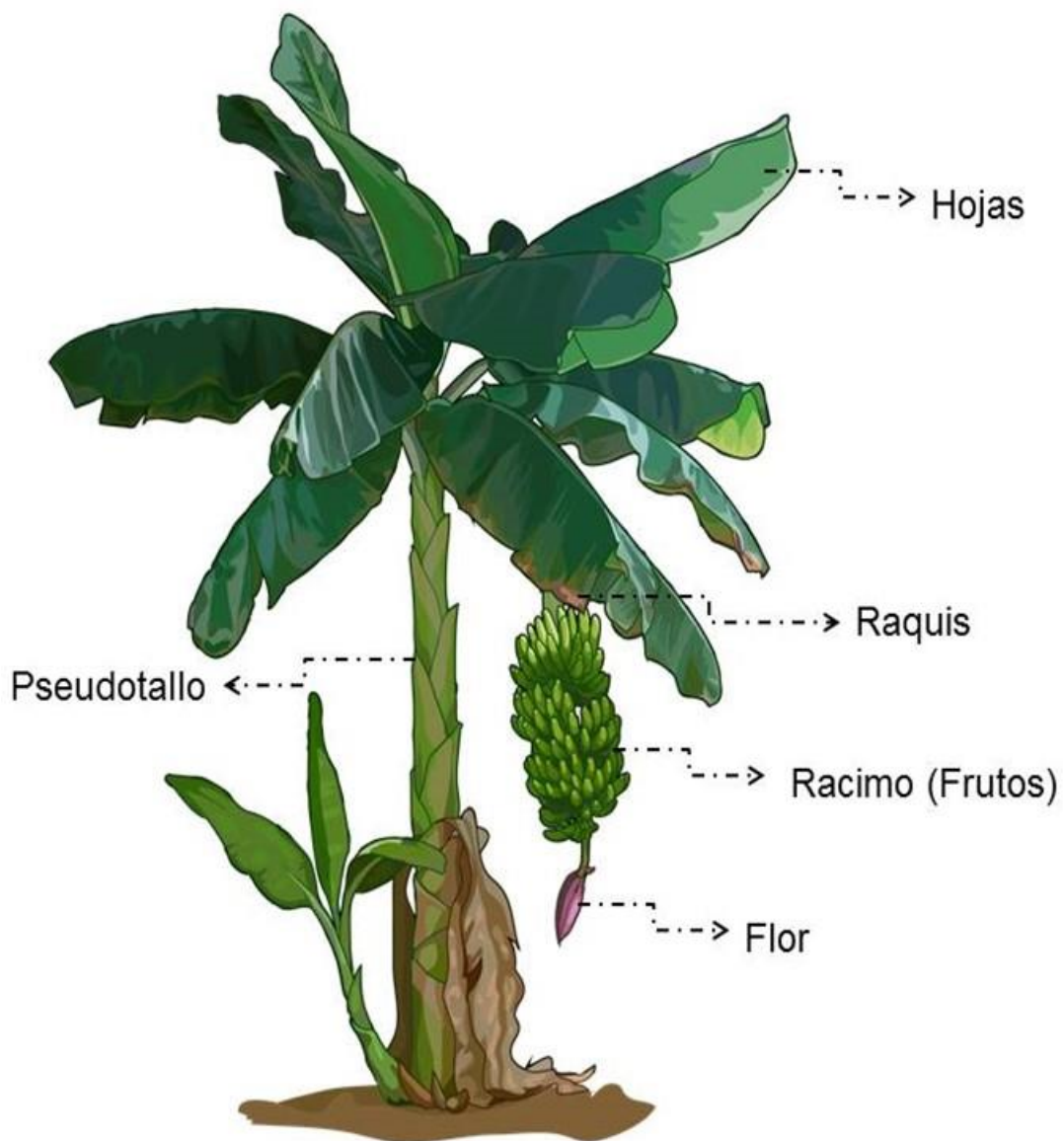
La generación y uso de plástico biodegradable (bioplástico), tiene su uso principal en el mercado de envases para la preservación y protección de productos, ya sean alimentos o cualquier tipo, incluyendo materias primas. En estudios recientes se manejan

materiales naturales que presentan alto nivel de biodegradabilidad, utilizando diferentes métodos de extracción, siendo métodos químicos, procesos enzimáticos y/o biológicos, los que facilitan la modificación de las cadenas poliméricas, para su desintegración y su incorporación al ambiente. El reto de estos polímeros es que sean capaces de proteger el producto que contienen y que al desecharlos sean degradados por procesos naturales.

El estado de Chiapas es uno de los mayores productores de plátano a nivel nacional (*Musa acuminata* AAA, *M. sapientum* ABB y *M. paradisiaca* AAB), según informes del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2016). Chiapas cuenta con una superficie sembrada de 26.6 mil hectáreas y una producción de 708,701 toneladas de plátano (fruto), siendo este el 12% consumible del total de la planta, si se toma en cuenta que una planta de plátano incluye además del fruto, raquis, pseudotallo, hojas y flor (desechos de cultivo) (Tabla 1 y Fig. 1).

Tabla 1. Composición de la planta de plátano (SIAP, 2016).

Racimo (Fruto)	10 – 20%
Pseudotallo	50 – 60%
Raquis	3 – 5%
Flor / Hojas	5 – 10%



Fuente. Modificado de UICN (2015).

Figura 1. Partes de la planta de plátano.

El pseudotallo es el desecho mayoritario en la producción de plátano y este material nada más es utilizado como abono, ya que a nivel industrial no ha tenido ningún uso o aplicación. El pseudotallo de plátano se considera una madera suave (Tabla 2), y está constituido principalmente por celulosa, hemicelulosa, lignina y almidón (Carchi, 2014).

Tabla 2. Composición química del pseudotallo de plátano (Carchi, 2014).

Celulosa	40 – 50%
Hemicelulosa	25 – 35%
Lignina	25 – 35%
Almidón	1 – 5%

Estos polímeros se han investigado durante muchos años, y con ellos se han creado distintos productos como la elaboración de plásticos biodegradables o biocompuestos (combinación de polímeros) (Carchi, 2014).

Entre las características de los plásticos se pueden mencionar: comportamiento elástico, tensión y resistencia. El módulo elástico, módulo de elasticidad o módulo de Young, es esencialmente una medida de firmeza o de la rigidez de un material. Si se aplican tensiones superiores a este límite, el material muestra deformaciones permanentes y no recupera su forma original. Un material sometido a tensiones inferiores a su límite de elasticidad es deformado temporalmente de acuerdo a la Ley de Hooke. Los materiales sometidos a tensiones superiores a su límite de elasticidad tienen un comportamiento plástico y algunos casos sufren deformaciones (roturas). La elongación es una propiedad de los materiales de recuperar su forma original cuando deja de actuar sobre ellos la fuerza que los deformaba. La resistencia al rasgado es la fuerza necesaria para propagar la ruptura de la muestra (Jiménez, 2013). Para llevar a cabo estas determinaciones se utiliza un analizador de textura, de acuerdo a la ASTM F392/F392M-11 (2016).

Los materiales poliméricos experimentan un deterioro al interaccionar con el medio que les rodea (degradación). En general puede afirmarse que los grandes enemigos de los plásticos son los disolventes, los ácidos, las bases y los oxidantes fuertes. Existe degradación mecánica, química, biológica y térmica (Plastivida, 2013) y las propiedades

ópticas más interesantes de los materiales plásticos son las relacionadas con su capacidad de transmitir la luz, tomar color y disponer de brillo, que proporcionan a los objetos fabricados una apariencia visual estética de alta calidad (Jiménez, 2013).

También se realizan estudios de Espectrometría Infrarroja con Transformadas de Fourier (IR-FT) y Microscopía de Barrida (MEB), donde la espectroscopia molecular se basa en la interacción entre la radiación electromagnética y las moléculas. Dependiendo de la región del espectro en la que se trabaje y por tanto de la energía de la radiación utilizada (caracterizada por su longitud o número de onda), esta interacción será de diferente naturaleza: excitación de electrones, vibraciones moleculares y rotaciones moleculares (Duque, 2010). La molécula, al absorber la radiación infrarroja, cambia su estado de energía vibracional y rotacional. Las transiciones entre dos estados rotacionales requieren muy poca energía, por lo que solo es posible observarlas específicamente en el caso de las muestras gaseosas. En el caso del estudio del espectro infrarrojo (IR) de muestras sólidas y líquidas sólo se tienen en cuenta los cambios entre estados de energía vibracional (Duque, 2010), (ver Anexo 1). Este análisis se realiza para conocer la interacción y caracterización entre compuestos de un material. Además de acercarse a la identificación de muestras desconocidas y control de calidad de producto terminado (Agilent Technologies, 2014).

El Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) se basa en la incidencia de un haz de electrones sobre una muestra conductora. Este haz se enfoca en un punto y se escanea la superficie. Se produce la emisión de señales como resultado de la interacción del haz electrónico con la muestra: electrones retrodispersados, electrones secundarios o rayos-X, entre otras. Este análisis se utiliza para estudiar los aspectos morfológicos de zonas microscópicas de distintos materiales (Mendoza *et al.*, 2011).

El presente estudio aborda la generación de bioplástico utilizando los polímeros presentes en pseudotallo de plátano obtenidos mediante métodos de extracción húmeda y seca.

IV. Antecedentes

4.1 Plásticos biodegradables

Los plásticos biodegradables son obtenidos a partir de materias primas renovables, siendo esta una característica esencial de estos materiales, diferenciándose del plástico comercial derivado del petróleo. Las ventajas que ofrecen estos materiales biodegradables son preservar fuentes de energía no renovables y utilizar los residuos (Almeida, 2004).

La producción y el uso de plásticos (polímeros sintéticos derivados del petróleo) han venido incrementando en los últimos 20 años, estos cuentan con ventajas como el costo bajo, además de presentar características mecánicas y químicas adecuadas para los distintos sistemas de envasado de alimentos (bolsas de pan, bolsas de congelación, tapas flexibles, botellas, contenedores, entre otros). El 40% de los plásticos producidos anualmente son desechados principalmente en basureros y menos del 3% de estos plásticos son reciclados, trayendo consigo contaminación, emitiendo gases dañinos al ambiente y pérdidas significativas de flora y fauna en varios ecosistemas (Malathi, 2014).

A principios del siglo XXI, las empresas dedicadas a la elaboración de plásticos mostraron una preocupación sobre el cuidado del ambiente, mencionando que es necesario encontrar soluciones y alternativas, como el reciclado de estos materiales (Siracusa *et al.*, 2008).

Una de las estrategias consiste en reutilizar y reciclar los materiales plásticos, como también la biodegradabilidad y compostabilidad de estos, ya que estas son características esenciales de mejoras continuas para preservar el ambiente (Trinetta *et al.*, 2016).

Los bioplásticos se obtienen principalmente de fuentes de origen animal, vegetal, marino y microbiano, siendo los polisacáridos (almidón, glucógeno, celulosa, quitina), la materia prima, presentes principalmente en la caña de azúcar, maíz, plátano, papa, trigo y remolacha (Borschiver *et al.*, 2008). Rojas (2008), menciona que los principales usos de bioplásticos son en áreas industriales (envasado) y ambientales.

4.2 Polímeros naturales

Las plantas naturalmente producen polímeros como el almidón, la celulosa, la hemicelulosa y lignina (Snell *et al.*, 2014). Estos polímeros se caracterizan por tener una estructura compleja y una diversidad funcional, lo cual proporciona algunas propiedades específicas hacia los bioplásticos como dureza, flexibilidad y transparencia; de igual manera permiten una resistencia a las grasas y aceites.

Uno de los polisacáridos más estudiados ha sido la celulosa, que es una materia prima polimérica casi inagotable, formado por cadenas de glucosa, teniendo consigo una amplia capacidad de modificación química (que pueden mejorar sus propiedades y funciones) y permite la elaboración de nuevos productos (Villada *et al.*, 2007).

4.3 Obtención de polímeros naturales

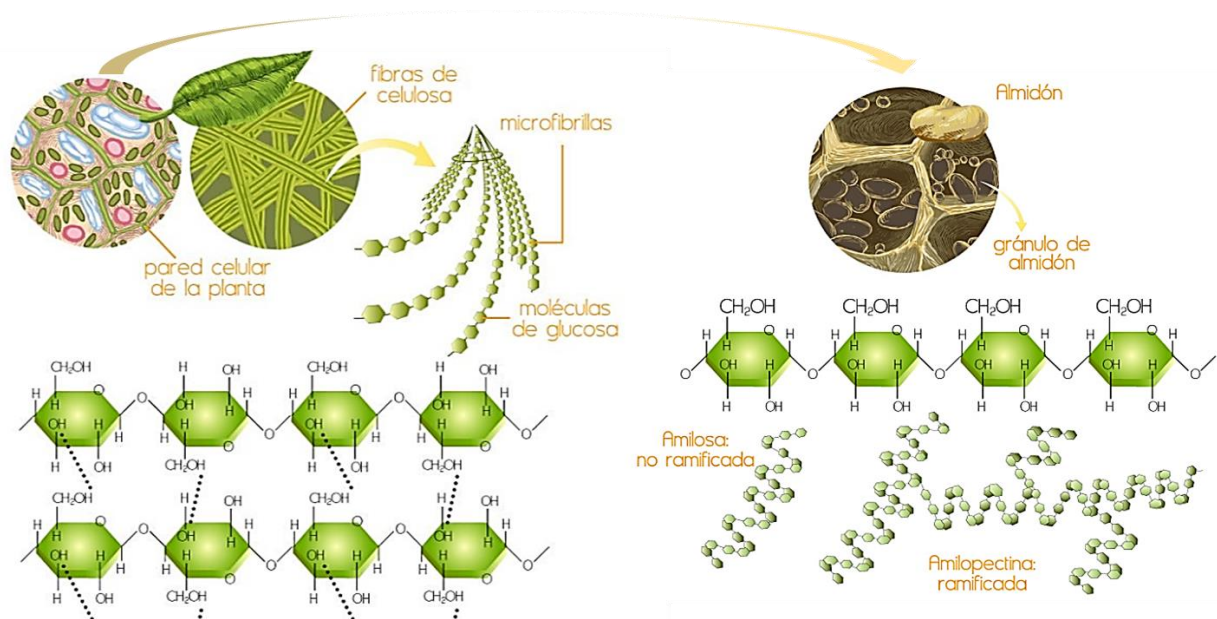
Cordeiro *et al.* (2004) propusieron el uso de plantas no maderables para controlar la demanda de materiales maderables, ya que son una fuente considerable de fibras para la fabricación de papel lignocelulósico o materiales compuestos como los bioplásticos.

Entre los principales residuos de cosecha actualmente utilizados se pueden mencionar: maíz, frijol, plátano, yuca, agave (Tabla 3), los cuales presentan porcentajes altos de almidón y celulosa, que son los polímeros utilizados para la fabricación de bioplásticos (Fig. 2).

Tabla 3. Polímeros presentes en principales residuos

Materia prima	Almidón	Celulosa	Hemicelulosa	Lignina	Referencia
Yuca	76.43%	*N/P	30-35%	14-15%	Monsalve <i>et al.</i> (2006)
Pseudotallo de plátano	1-5%	30-40%	20-30%	15-20%	Carchi (2014)
Caña de azúcar	11.65%	47.29%	*N/P	24.41%	Vega-Baudrit <i>et al.</i> (2008)
Tallo de maíz	32-35%	23.6%	*N/P	5.8%	Treviño <i>et al.</i> (2011)

*N/P: No presenta datos

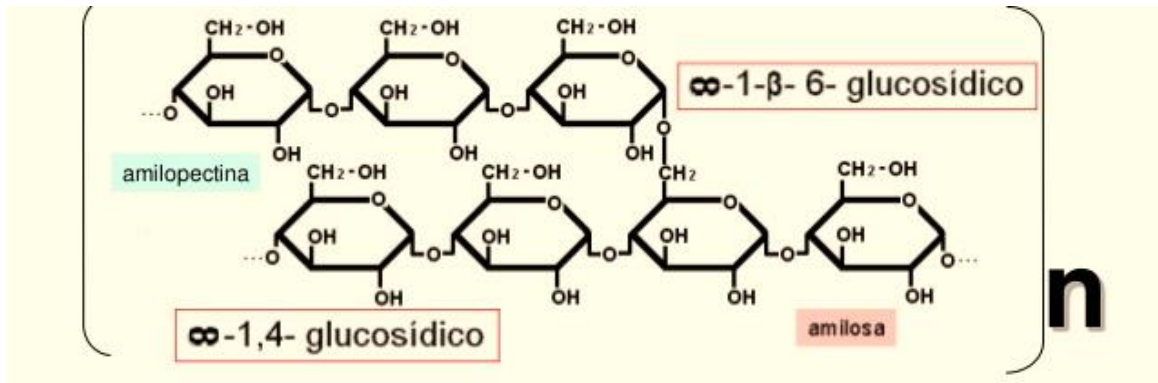


Fuente. Modificado de Portal académico, UNAM (2013).

Figura 2. Componentes de la pared celular (Celulosa, hemicelulosa, lignina y almidón).

4.3.1 Almidón

El almidón $(C_6H_{10}O_5)_n$, es un polímero natural, formado por un monómero de glucosa, es una mezcla de dos polisacáridos similares, la amilosa y la amilopectina (Fig. 3). Constituyen la reserva de nutrientes de plantas, en términos de cantidad el almidón, después de la celulosa, es el carbohidrato más abundante en la naturaleza, y es el principal constituyente de la harina.

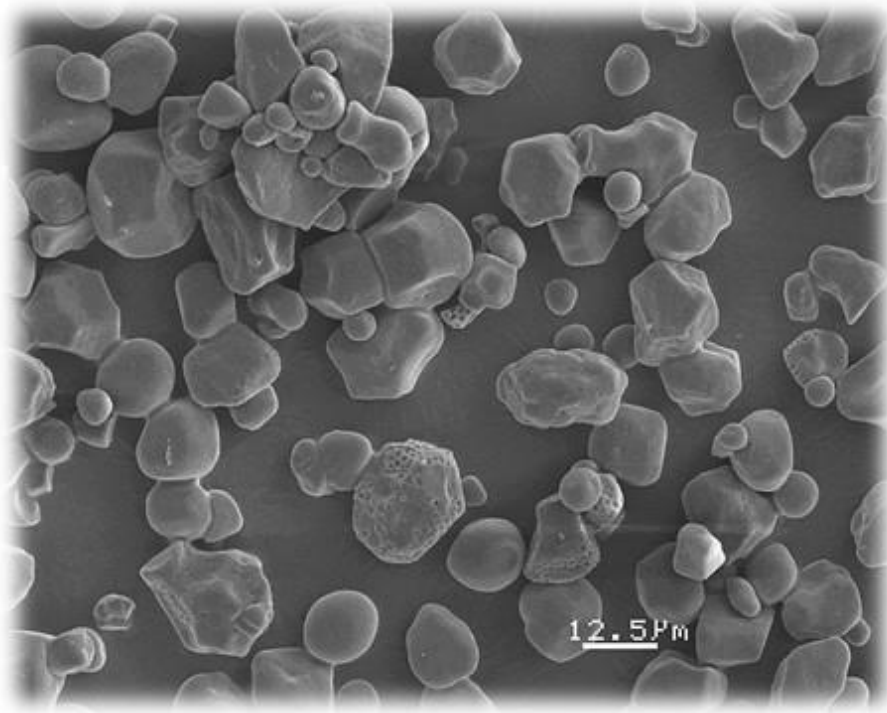


Fuente. Modificado de Rodríguez, 2013.

Figura 3. Estructura del almidón.

El almidón se presenta en forma de gránulos de forma redondeada, irregular, con tamaños que oscilan entre 2 y 100 μm (Fig. 4). Las fuentes del almidón son los cereales, tubérculos, leguminosas y frutas; se encuentra en cantidades elevadas en frutas, como el plátano y en varias legumbres donde las transformaciones reversibles entre el almidón y glucosa intervienen en la maduración y después de la cosecha, variando su concentración según el estado de madurez que se presente (Charley, 1998).

De igual manera consta de diversas aplicaciones a nivel industrial, como en los sectores alimentarios y farmacéuticos, entre otros. Este polímero es actualmente utilizado para desarrollar películas biodegradables en combinación con plastificantes (almidón termoplástico) (González *et al.*, 2016).

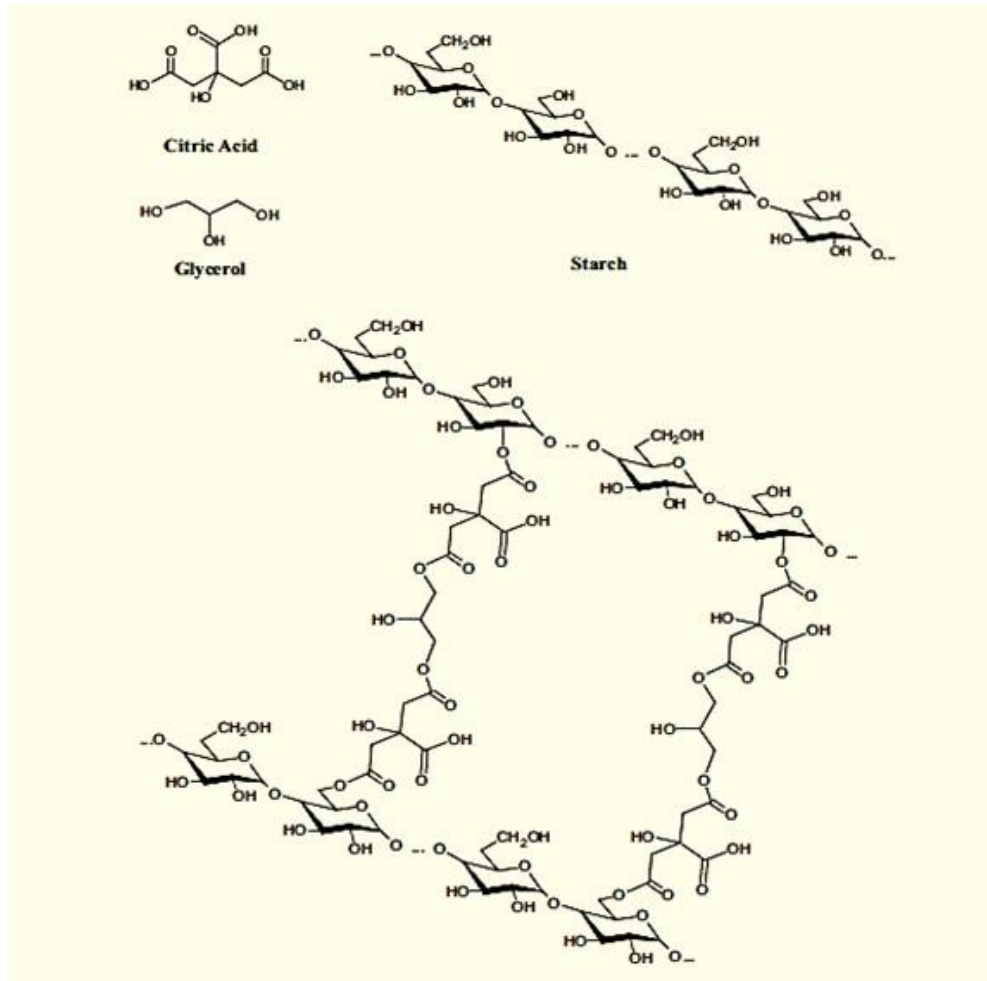


Fuente. Laboratorio MEB ECOSUR-Unidad Tapachula, 2016.

Figura 4. Gránulos de almidón de maíz.

El almidón procesado cuenta con una barrera a la humedad, propiedades ópticas y mecánicas como son la cristalinidad, textura y color. Existe un proceso químico el cual evita que se lleve a cabo la retrogradación. Este proceso consta de introducir grupos éster hidrófobos para sustituir los grupos hidroxilo del almidón termoplástico (González *et al.*, 2016).

El ácido cítrico, tiene grupos carboxílicos, por lo que está siendo utilizado como agente de reticulación del almidón, el cual ayuda a mejorar las propiedades de barrera (protección al oxígeno y a la luz, principalmente) (Fig. 5).



Fuente. Modificado de Revista Materials Research, 2015.

Figura 5. Estructura reticulada de almidón, ácido cítrico y glicerina (plastificante).

4.3.1.1 Polímeros termoplásticos

Existen polímeros termoplásticos que están compuestos por cadenas lineales de moléculas con fuertes enlaces intramoleculares y enlaces débiles intermoleculares, este tipo de plásticos presentan características particulares ya que cuando se polimerizan pueden ablandarse o derretirse por calor para cambiar su forma. Se sabe que este procedimiento no afecta las condiciones y propiedades del polímero, siendo esto una ventaja para su uso práctico y para ser reutilizables, estos polímeros pueden utilizarse para crear productos plásticos utilizando métodos como moldeado por inyección y termoformado, además que puede ser procesado más rápido. Entre los polímeros

termoplásticos más utilizados en la industria se encuentran el polietileno, poliestireno, nylon, policarbonatos, entre otros (Estrada, 2010).

4.3.1.1.1 Almidón termoplástico

El almidón puede convertirse en almidón termoplástico (TPS-siglas en inglés) a partir de modificaciones en su estructura utilizando altas temperaturas y cizallamiento del material en combinación con plastificantes. El TPS es un material que se obtiene por la disrupción (modificación) estructural que se da dentro del gránulo de almidón cuando este es procesado con un bajo contenido de agua y la acción de fuerzas térmicas y mecánicas en presencia de plastificantes que no se evaporan fácilmente durante el procesamiento. Esta combinación trae consigo mejoras al material, dentro de ellas se presenta una reducción en la fragilidad de los materiales durante su manipulación y almacenamiento. La adición de un plastificante reduce los enlaces de hidrógeno internos entre las moléculas de almidón mientras aumenta su volumen molecular. Varios plastificantes se han utilizado para generar TPS, dentro de ellos se presentan la formamida, la etanolamina, el sorbitol y la glicerina (Bootklad y Kaewtatip, 2013).

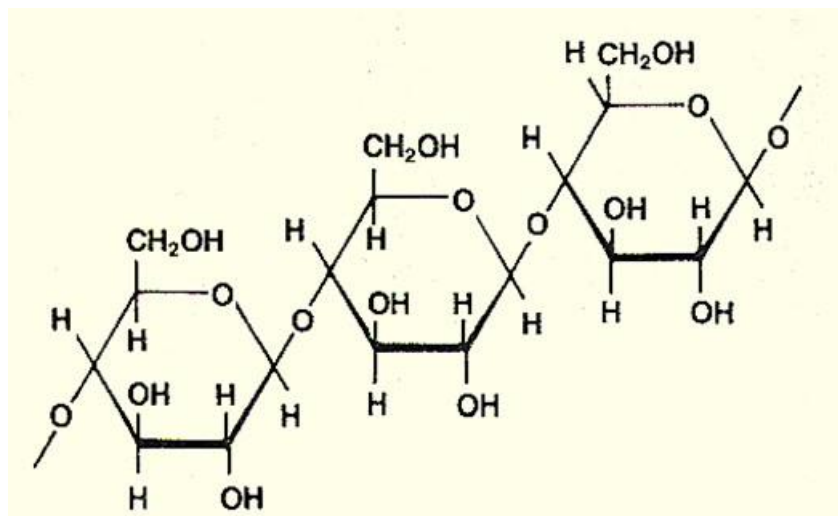
El TPS es compatible con el ambiente, siendo un material renovable el cual puede incorporarse al suelo como abono. El desarrollo y producción de almidón termoplástico biodegradable se considera importante para reducir la cantidad total de desechos plásticos sintéticos en el mundo (Villada *et al.*, 2008).

4.3.1.1.1.1 Plastificante

La incorporación de los plastificantes en el almidón se utiliza principalmente para mejorar su flexibilidad y procesabilidad. Estos compuestos mejoran el proceso de gelatinización, el cual es un proceso indispensable para la obtención de almidón termoplástico. Los plastificantes deben ser polares, hidrofílicos y compatibles con el almidón. Como es el caso de la glicerina ($C_3H_8O_3$), es un líquido claro con un sabor ligeramente dulce, estable y soluble en agua y miscible con etanol, ligeramente soluble en acetona.

4.3.2 Celulosa

La celulosa ($C_6H_{10}O_5$)_n, es un polímero de alto peso molecular, lineal y polidisperso en conjunto con otros polímeros como la hemicelulosa y la lignina (Fig. 6), siendo parte importante de la pared celular vegetal, ya que este da soporte y rigidez al organismo. Es uno de los materiales orgánicos abundantes en la tierra que se caracteriza por su gran disponibilidad y por ser una fuente de energía renovable. Su uso en diferentes campos está restringido por limitaciones derivadas a su estructura ya que se puede presentar modificaciones físicas e irreversibles, según sea el caso de estudio (Le *et al.*, 2015).



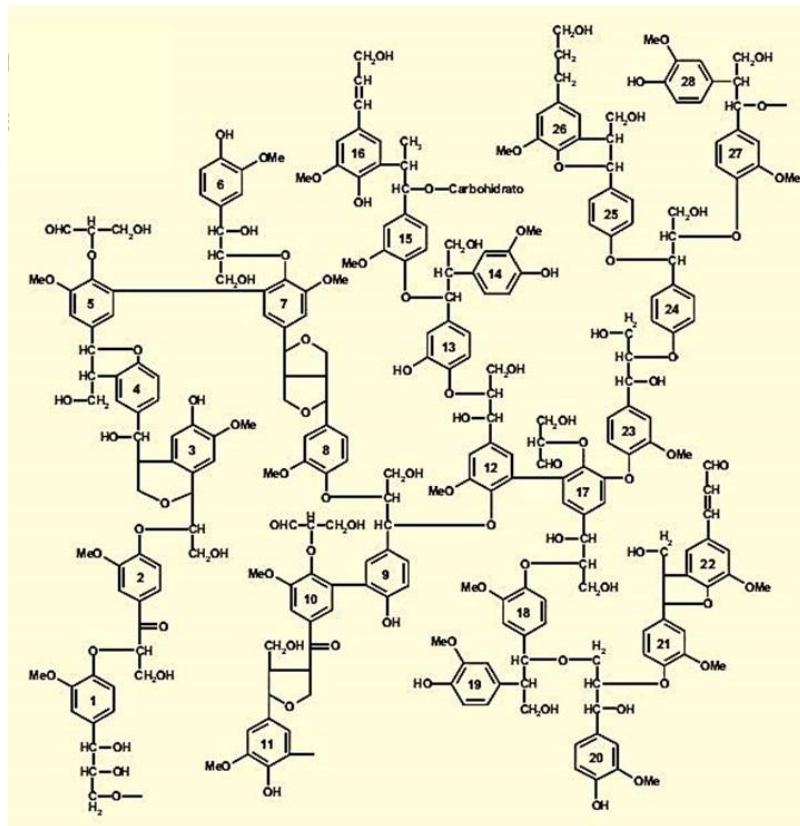
Fuente. Modificado de Bioquímica, 2016.

Figura 6. Estructura de la celulosa.

4.3.3 Lignina

La lignina ($C_9H_{10}O_2C_{10}H_{12}O_3C_{11}H_{14}O_4$) es un polímero compuesto de hidrocarburos alifáticos y aromáticos, los cuales se asocian con la celulosa y la hemicelulosa dentro de la pared celular de las plantas. Este polímero es totalmente amorfo e hidrofóbico y se involucra con polímeros termoplásticos. La lignina (Fig. 7) es el responsable de la resistencia, rigidez y protección de las paredes celulares vegetales (Le *et al.*, 2015).

Hernández (2013) explica la interacción entre polímeros presentes en la pared celular, utilizando lignina y almidón termoplástico para la elaboración de biocompuestos (empaques y recubrimientos en alimentos). Estos sistemas poliméricos presentan entrecruzamientos en sus estructuras, generando espumas rígidas termoestables con propiedades mecánicas similares a aquellas espumas comerciales como el poliuretano, usadas para aislamiento.



Fuente. Modificado de Revista Ciencia, 2009.

Figura 7. Estructura de la lignina.

4.4. Principales métodos de extracción de polímeros naturales

Actualmente existen distintos métodos para la extracción de almidón y celulosa, entre ellos destacan la extracción química, física, húmeda y enzimática. Teniendo rendimientos favorables en cada uno de los casos (Tabla 4).

Tabla 4. Métodos de extracción de polímeros

Métodos de extracción	Almidón	Celulosa	Lignina	Referencia
				Viloria <i>et al.</i> (2014)
Químico	Si	Si	Si	Canché-Escamilla (2005)
				Morán (2008)
Físico	Si	Si	Si	Cobana & Antezana (2007)
				Acuña (2012)
Húmedo	Si	Si	--	Benavides (2014)
				Moya (2011)
Enzimático	--	--	Si	Blanco (2012)

--. No presenta datos.

Cada uno de los procesos de extracción debe llevarse a cabo de manera específica. En caso de la extracción química es necesaria la presencia de disolventes, los cuales produce residuos contaminantes. Para la extracción física, se utilizan maquinas como prensas o molinos eléctricos, tamizadores, entre otros. En la extracción de vía húmeda se utiliza principalmente agua, equipos como licuadoras industriales y prensas. Finalmente en la extracción vía enzimática se utilizan microorganismos productores de enzimas específicas para un tratamiento determinado. Cabe señalar que solo los residuos que se generan y no se manejan de manera adecuada son contaminantes.

4.4.1 Extracción de almidón

Acuña (2012) realizó estudios sobre la extracción, caracterización y aplicación de almidón de ñame (*Dioscorea*) para producción de harina, tomando en cuenta la metodología utilizada para la extracción (vía húmeda-mecánica) de almidón de yuca, los resultados presentaron un rendimiento de almidón del 24.8%.

De igual manera Melian (2010), realizó la extracción de almidón de papa utilizando 10 variedades nativas y 2 comerciales, evaluando dos metodologías. La primera fue por el método de decantación y la segunda por centrifugación, los resultados de cada uno de estos métodos fueron parecidos al de extracción mecánica, obteniendo rendimientos de 21.90% y 36.80% lo cual es bastante satisfactorio.

Cobana y Antezana (2007), realizaron extracción de almidón de yuca utilizando el método seco, presentando rendimientos de 30.85% y 30.79%.

Makhtar *et al.* (2013) estudiaron la presencia de almidón en la planta de arroz (*Tacca leontopetaloides*), extraído por el método mecánico, indicando un rendimiento del 22.5%. Posteriormente la gelatinización utilizando como plastificante a la glicerina para obtener el TPS.

4.4.2 Extracción de celulosa

A pesar de que se ha descrito que la elaboración de TPS trae consigo varias ventajas, se presentan algunas deficiencias en sus características físicas, ya que al combinarse el almidón con glicerina, se presenta una mayor capacidad en absorción de agua y una disminución en las propiedades mecánicas y térmicas en la materia.

Es por eso que se ha propuesto utilizar distintas fibras naturales, y se han utilizado para la preparación de biocompuestos de TPS/Fibra. El uso de fibras puede presentar resistencia de tracción, estabilidad térmica y recristalización del almidón, debido a la fuerte interacción que ocurre entre estos dos polímeros. Dentro de las fibras más estudiadas están la de caña de azúcar, de algodón, de eucalipto (*Eucalyptus*), de yuca (*Manihot esculenta*), de paja de trigo (*Triticum*), de sisal (*Agave sisalana*), entre otras (Bootklad y Kaewtatip, 2013).

Viloria *et al.* (2014) utilizaron pseudotallo y pinzote (raquis) de plátano para extraer celulosa con varios métodos, incluyendo el método químico, usando ácido clorhídrico y

sulfúrico; concluyeron que el tipo de ácido no afecta en gran proporción las propiedades de la celulosa, tales como: grado de polimerización, índice de cristalinidad, tamaño de cristal y estabilidad térmica.

De igual manera menciona el método utilizado por Canché-Escamilla (2005) y Morán *et al.* (2008) realizaron un estudio sobre la factibilidad de obtención de celulosa a partir de desechos agrícolas del banano, mediante un proceso de cuatro etapas: hidrólisis ácida, cloración, extracción alcalina y blanqueo. Observaron que la variación de estos factores afecta el rendimiento de la celulosa y su peso molecular, siendo el pH la variable de mayor influencia, presentando un rendimiento de 36.1% y 35% respectivamente.

Bolio *et al.* (2011) realizaron la obtención de hilos de celulosa a partir de desechos agroindustriales de banano, usando la técnica de pulpeo (extracción química), presentando un 66% de rendimiento.

Benavides (2014) describe la obtención de celulosa de bagazo de caña de azúcar, cascarilla de café y arroz, por 3 métodos (química, mecánica y quimio-termo mecánica). La celulosa resultante (52%) mostró forma de pasta con un alto contenido de agua, y una importante proporción de lignina, la cual le da un color café al material de interés.

4.4.2.1 Eliminación de lignina

El principal problema que se presenta en la industria de papel y de bioplásticos derivados de la celulosa, es la presencia de residuos de lignina presentes en las fibras que provocan un oscurecimiento. Los principales procesos que se utilizan para la eliminación de lignina son el proceso Kraft, el cual consta de un blanqueado con cloro, eliminando la lignina, alrededor del 5% del cloro utilizado se queda en la pasta y el otro 90% se transforma en iones cloruro y un 10% en compuestos organoclorados que son altamente contaminantes (Blanco, 2012).

La eliminación de los residuos de lignina en las cadenas de celulosa y hemicelulosa por acción enzimática representa una alternativa ecológica debido a su naturaleza

específica y sin la producción de compuestos contaminantes. Un tratamiento con enzimas combinadas de feruloil esterasas-xilanasas y lacasas muestra ser efectivo en la remoción de la lignina en pulpa de paja de trigo, presentando hasta un 80% de eliminación (Blanco, 2012).

Moya (2011) utilizó lacasas para la eliminación de lignina en muestras de papel. Se pueden utilizar mediadores de lacasa (siendo estas moléculas que potencian la actividad enzimática ya que favorecen la transferencia electrónica), ya que se ha visto que en comparación con otras enzimas empleadas en el blanqueo, como las xilanasas, sobre las fracciones fenólicas y no fenólicas de la lignina, disminuyendo así las pérdidas de rendimiento. Siendo el método enzimático una opción para degradar la lignina.

4.4.3.1 Hongo de pudrición blanca: *Phanerochaete chrysosporium*

La pared vegetal, consiste principalmente de lignina, celulosa y hemicelulosa. La lignina es el polímero que rodea a la celulosa y es capaz de retrasar la despolimerización del mismo.

Dado que la lignina es un polímero heterogéneo, inactivo, amorfo y ramificado, requiere una despolimerización por mecanismos oxidativos extracelulares para su degradación, utilizando principalmente microorganismos.

El uso de microorganismos es una herramienta de la Biotecnología que puede contribuir a un uso de recursos eficiente y amigable con el ambiente. Los estudios realizados para la remoción de la lignina son principalmente para la fabricación de pulpa de papel, y biocombustibles en biorrefinerías de lignocelulosa, en este caso la elaboración de bioplásticos (Martínez *et al.*, 2009).

La eliminación de la lignina es parte fundamental para reciclar el carbono fijado en el proceso de fotosíntesis terrestre, y algunos basidiomicetos (hongos de pudrición blanca) se ubican entre los principales degradadores de este compuesto. Los hongos producen peróxidos de hidrógeno y estos son lo que oxidan a la lignina hasta generar CO₂ y H₂O (Martínez *et al.*, 2009). *Phanerochaete chrysosporium*, es uno de los hongos

de pudrición blanca más estudiados para la degradación de la lignina (Call y Mücke, 1997).

Phanerochaete chrysosporium (Fig. 8) es un basidiomiceto termotolerante, tiene una temperatura óptima de crecimiento de 39 °C, pero puede crecer desde los 12 a 50 °C y su principal función es degradar la madera, se emplea para la obtención de biomasa, cuando se cultiva a pH comprendidos entre 4 y 4.5 (Call y Mücke, 1997).



Figura 8. *Phanerochaete chrysosporium* en Agar Papa Dextrosa (PDA).

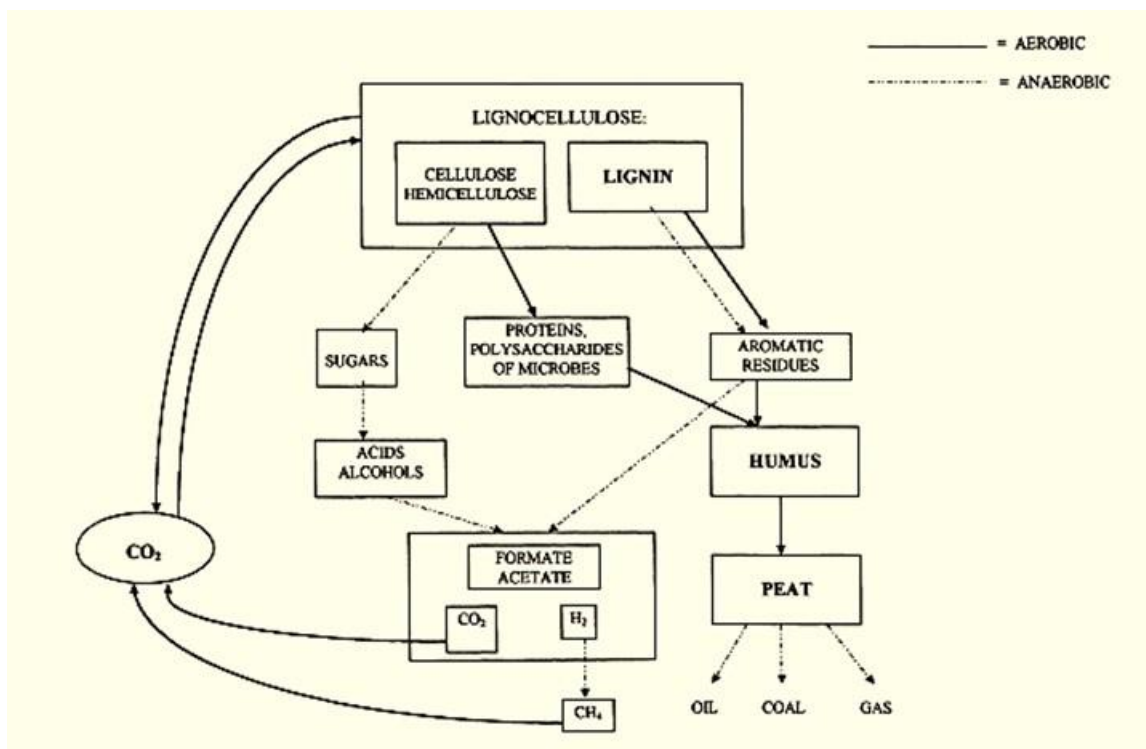
4.4.3.2 Producción de enzimas ligninolíticas

La producción de enzimas obtenidas principalmente de hongos filamentosos proporciona una alternativa tecnológica atractiva para uso biotecnológico, ya que presentan características fisiológicas y morfológicas que ayudan al manejo de desechos agroindustriales, además de presentar la capacidad de degradar compuestos orgánicos, como los componentes de la pared celular vegetal (García *et al.*, 2003).

Los microorganismos capaces de degradar estos compuestos con frecuencia son los hongos de pudrición blanca, entre los que se incluyen hongos *Basidiomycetes*, incluyendo la especie *Phanerochaete chrysosporium*. Como se explicó anteriormente, este microorganismo produce enzimas ligninolíticas, las cuales ayudan a degradar los componentes de la pared celular. Este hongo ha demostrado que despolimeriza, degrada y mineraliza eficientemente todos los componentes de las paredes celulares de las

plantas, incluyendo a la celulosa, la hemicelulosa y a la lignina la cuál es la más recalcitrante (García *et al.*, 2003). Las enzimas oxidativas presentes en *Phanerochaete chrysosporium* lignino-peroxidasa, manganeso-peroxidasa y lacasa despolimerizan a la lignina. (Fig. 9).

Estas enzimas mencionadas anteriormente son responsables en la generación de radicales libres altamente reactivos y no específicos que ayudan en la degradación de este compuesto (Kersten y Cullen 2007).



Fuente. Modificado de Paliwal *et al.*, (2015).

Figura 9. Ciclo de degradación de compuestos lignocelulósicos.

4.4.3.2.1 Lignino-peroxidasa (LiP)

La enzima lignino-peroxidasa se descubrió en cultivos de *Phanerochaete chrysosporium*, siendo una de las que cubren una mayor proporción en el complejo enzimático de las ligninasas. La LiP cataliza una gran variedad de reacciones, como son

el rompimiento de enlaces éster y compuestos diméricos de lignina. También se conoce su reacción catalizadora en la descarboxilación de ácido fenilacético, oxidación de alcoholes aromáticos a compuestos aromáticos, hidroxilación, formación de quinonas y apertura de anillos aromáticos (Fig. 10) (Wong, 2009).



Fuente. Modificado de Wong, 2009.

Figura 10. Estructura de la enzima LiP en *Phanerochaete chrysosporium*

LiP también oxida sus sustratos por dos pasos consecutivos de un electrón, con la formación de cationes radicales (Wong, 2009). Esta enzima posee un ciclo catalítico unido a la fracción proteica de LiP oxidado por H_2O_2 teniendo reacción con alcohol veratrílico, el cual actúa como mediador en la degradación de lignina (Ruiz, 1998).

4.4.3.2.2 Manganese-peroxidasas (MnP)

Esta enzima se encuentra en los cultivos ligninolíticos de *Phanerochaete chrysosporium*, la cual es utilizada en sustratos fenólicos usando Mn^{+2} y Mn^{+3} como un intermediario en la reacción redox. Se ha demostrado que MnP es capaz de producir

H₂O₂ en la oxidación de glutatión, NADPH y ácido dihidroxicinámico. La MnP está involucrada en la oxidación de fenoles y estructuras fenólicas de la lignina (Fig. 11) (Wong, 2009).



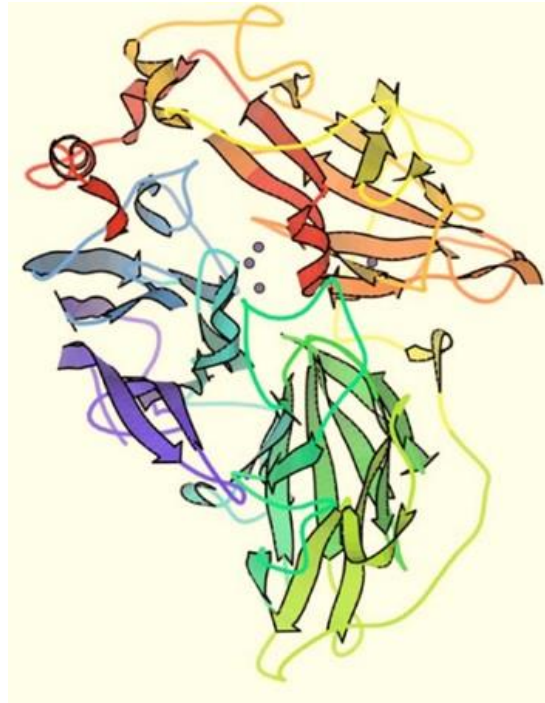
Fuente. Modificado de Wong, 2009.

Figura 11. Estructura de MnP en *Phanerochaete chrysosporium*.

La enzima MnP es capaz de degradar cloroligninas de alto peso molecular. También es capaz de depolimerizar moléculas de lignina al romper enlaces alquil-fenilos (Wong, 2009).

4.4.3.2.3 Lacasas

La enzima lacasa degrada la lignina, y es producida principalmente por hongos de pudrición blanca, esta enzima tiene una forma constitutiva e inducible, compuesta por glicoproteínas y pertenecen a la familia de Cu-oxidasas azules, las cuales catalizan la oxidación de compuestos fenólicos y aminas aromáticas con la correspondiente reducción de oxígeno molecular a agua. Cumplen con una especificidad amplia hacia los grupos aromáticos que contienen grupos aminos e hidroxilos (Fig. 12) (Wong, 2009).



Fuente. Modificado de Wong, 2009.

Figura 12. Estructura de lacasa en *Trametes versicolor*.

La enzima oxida fenoles y subestructuras fenólicas por la abstracción de un electrón con la formación de radicales que pueden llevar a la repolimerización o depolimerización.

4.5 Materia prima para la obtención de polímeros naturales: Plátano

Una de las materias primas actualmente estudiadas es el plátano, cuya producción genera gran cantidad de residuos (88% del total de producción). Esta es una planta perenne de gran tamaño, ya que carece de un verdadero tronco, en lugar de este, posee vainas foliares que se desarrollan formando estructuras llamadas pseudotallos con diámetros de 30 cm y alcanzando los 7 m de altura. Además cuentan con hojas lisas, oblongas y son las más grandes del reino vegetal, ligeramente cordiformes y verdes. Estas plantas producen un racimo de plátanos. Después de su cosecha, el pseudotallo se corta y se suele dejar en la plantación para ser utilizado como material orgánico. Se estima una producción de plátano de 102 millones de toneladas por año, de la cual 7.3 millones de toneladas, corresponden a la producción de Latinoamérica (Méndez, 2010).

Por lo general una planta de plátano tiene un peso promedio de 100 kg, los cuales se reparten entre las hojas (15 kg), el pseudotallo (50 kg), el fruto (33 kg) y el raquis (2 kg). Estos datos arrojan que el 88% del volumen total de producción lo constituyen los desechos que no son aprovechados (Paredes *et al.*, 2010).

Estos cultivos son fuente de almidón y fibras celulósicas (Tabla 5) por la composición química y estructural que poseen (celulosa, hemicelulosa y lignina).

Tabla 5. Composición química de pseudotallo de plátano

Composición química pseudotallo de plátano	Lignina (%)	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Almidón (%)	Referencia
<i>Musa paradisiaca</i> AAB	5.2	33.8	10.5	N/P*	Carranza <i>et al.</i> , (2015) Gogoi <i>et al.</i> , (2014)
<i>Musa balbisiana</i> AB	8.57	37	21.67	N/P*	Paz (2011)- **Guevara <i>et al.</i> , (2012)
<i>Musa acuminata</i> AAA	18.6	63.9	1.3	3.07**	**Guevara <i>et al.</i> , (2012)
<i>Musa sp</i>	12.18	28.34	15.67	3 - 5	Guarnizo <i>et al.</i> , (2012).

*N/P: No presenta datos.

La producción de plátano en México es de aproximadamente 2 millones de toneladas métricas por año. Las especies *Musa cavendishii*, *Musa acuminata*, *Musa paradisiaca* y *Musa balbisiana*, representan el 75% del total, de ahí existe un gran volumen de residuos de la industria platanera que podrían ser aprovechados si se les transforma para darles un valor agregado.

Estudios previos han mostrado que es factible obtener almidón y fibras celulósicas de los residuos agroindustriales del plátano, por lo tanto, estos desechos agrícolas son una atractiva fuente potencial para la obtención de polímeros (Bolio *et al.*, 2011).

Los materiales de interés en esta investigación, son la celulosa y el almidón, que se obtuvieron del plátano cultivado en la región Soconusco del Estado de Chiapas, por tener alta producción a nivel estatal (23,456 hectáreas en 2016). Se utilizaron los residuos de pseudotallo del plátano porque además de ser un desecho rico en polímeros naturales, este no se reutiliza para uso comercial (SIAP 2016).

4.6 Biocompuestos: Materiales compuestos

Son una mezcla o combinación de dos o más constituyentes, las cuales presentan distinta composición química y son insolubles entre sí. Estos materiales contienen una matriz y un refuerzo; la matriz es la que presenta características de esfuerzo y protección, y en el caso del refuerzo, propiedades mecánicas al material. Pueden clasificarse dependiendo del tipo de matriz (poliméricos), de igual manera del tipo del refuerzo (fibras) (Rodríguez-Castellanos *et al.*, 2015).

Los biocompuestos son plásticos de origen biológico combinadas totalmente con fibras degradables como materiales celulósicos y resinas naturales como el PLA y almidón modificado para reforzar materiales con matrices poliméricas y mejorar sus propiedades mecánicas (Abdul *et al.*, 2012).

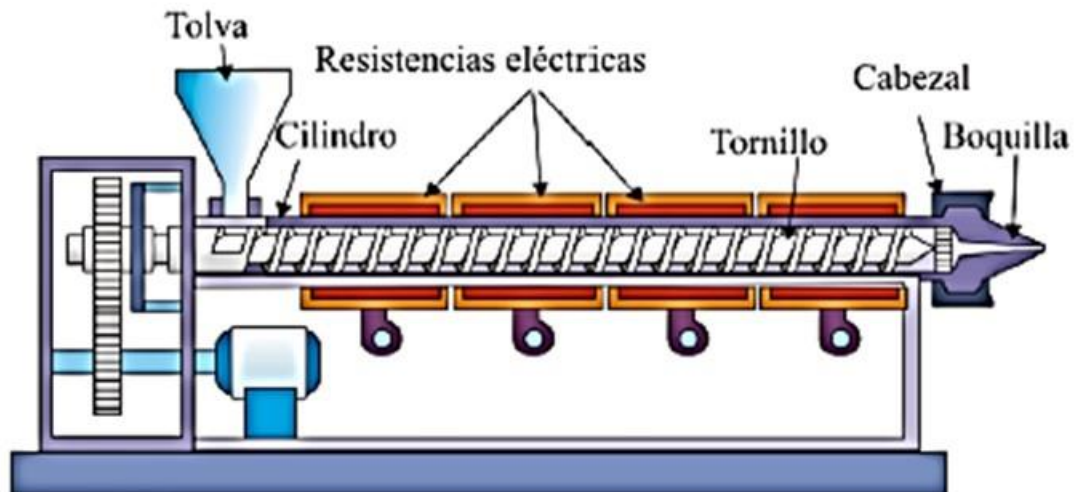
Actualmente estos materiales compuestos son fabricados por técnicas tradicionales como extrusión, moldeo por inyección, moldeo manual, moldeo por transferencia de resina, entre otras. (Abdul *et al.*, 2012).

4.7 Tecnologías de procesamiento: Extrusión

Las tecnologías de procesamiento que se utilizan para transformar los polímeros en artículos útiles, como los envases, son también aplicables para biopolímeros. Estos materiales presentan propiedades termoplásticas, incluyendo su punto de fusión; ya que el biopolímero es fundido para posteriormente ser moldeado y solidificado. Dentro de los diferentes tipos de procesamiento que se pueden aplicar se encuentran: la extrusión, la

inyección por moldeo, el laminado, el termoformado, el espumado, entre otros (Jiménez, 2013).

La extrusión es un tipo de procesamiento común para polímeros termoplásticos, donde la resina se funde para posteriormente formarse como película, la cual puede ser soplada, aplanada, entre otros manejos de polímeros. El extrusor (Fig. 13) se compone de un barril de metal calentado eléctricamente, una tolva para la alimentación de la resina, un motor para hacer girar un tornillo y un dado para dar forma al polímero fundido. La combinación de la energía térmica, el tornillo y el barril (generada por un calentador y calor por fricción debido al roce entre el plástico y los componentes del extrusor), proporcionan calor suficiente para fundir los gránulos de plástico (Jiménez, 2013). Cabe señalar que la forma del polímero depende la salida del extrusor (boquilla).



Fuente. Modificado de Jiménez, 2013.

Figura 13. Extrusor monohusillo.

4.7.1 Extrusión de Biocompositos: TPS con aditivos (Celulosa)

Para la generación de estos tipos de biocompuestos se han utilizado fibras o microfibrillas de pulpa de papa (*Solanum tuberosum*), fibras blanqueadas, eucalipto (*Eucalyptus*), lino (*Linum usitatissimum*) y ramio (*Boehmeria nivea*). Se ha sugerido que hay una alta compatibilidad entre los polímeros naturales de almidón y fibras, principalmente en la tracción y en las pruebas de impacto; esto quiere decir que hay un

mejor refuerzo con la matriz. De igual manera se presenta un aumento de las propiedades mecánicas teniendo una interrelación mayor entre fibra-matriz (reducción del carácter hidrofóbico). Al momento de interaccionar estos dos polímeros forman una red tridimensional entre los diferentes carbohidratos a través de puentes de hidrógeno (Averous y Boquillon, 2004).

Curvelo *et al.* (2001) utilizaron celulosa de eucalipto y almidón de maíz (TPS), donde mencionan que este biocompuesto se puede manipular a temperaturas altas (90 °C), con bajo cizallamiento y presentando fácil fundición por métodos de extrusión, inyección o por moldeo por soplado.

Manjarrez *et al.* (2011) utilizaron nanocelulosa (celulosa triacetato) y lignina comerciales para la formación de un biocompuesto. Mencionan que todos los biopolímeros se pueden utilizar como membranas, ya que las implementaron para retener metales pesados en aguas subterráneas. Reportaron que la interacción que tienen estos dos materiales ayuda en gran medida a las propiedades mecánicas ya que están fuertemente relacionados con una buena dispersión y una adhesión en toda la matriz polimérica. El uso de estos bicompuestos, presenta eficiencia, bajo costo de operación, alta selectividad y tecnologías nuevas en separación.

Hietala *et al.* (2013) propusieron utilizar harina de madera de coníferas (Scandinavian Wood Fiber AB, Orsa, Sweden) y almidón de papa con ácido esteárico para formar TPS, posteriormente llevaron a cabo el proceso de extrusión, evaluando las propiedades mecánicas y ópticas del material obtenido. Estos autores mencionan que cuando se combinan estos polímeros se presenta una mejor resistencia de tracción y una reducción a la rotura de la matriz polimérica formada.

4.8 Características de los plásticos

La tabla 6 presenta las características de termoplásticos comerciales, cabe señalar que aunque se encuentran en la misma clasificación (termoplásticos) cada plástico presenta características específicas siendo estas utilizadas para conocer sus distintas aplicaciones, estos materiales pueden ser usados como empaques, contenedores, bolsas, entre otros.

Tabla 6. Propiedades mecánicas de plásticos comerciales

Propiedades mecánicas	Resistencia a la tensión (Mpa)	Elongación (%)	Módulo de Young (Mpa)	Referencia
PE-LD	15-79	150-600	0.06-0.17	
PE-MD	926-940	12-19	100-150	James, 2007
HD-PE	941-965	18-33	12-700	
PLA	48	35	337	
PLA-TPS	38	2.5	*N/P	
TPS-CELULOSA	1.73-25	1.5-553	20-1500	Varios autores**

PE-LD: Polietileno de baja densidad. PE-MD: Polietileno de media densidad. HD-PE: Polietileno de alta densidad. PLA: Ácido poliláctico. PLA-TPS: Ácido poliláctico y almidón termoplástico. *N/P: No presenta datos. **Kampangkaew *et al.*, 2009., Teixeira *et al.*, 2009., Guimaraes *et al.*, 2009., Hietala *et al.*, 2013., Sudharsan *et al.*, 2015 y Miranda *et al.*, 2015.

4.9 Estudios realizados con materiales compuestos

Es necesario mencionar que los materiales compuestos son combinaciones macroscópicas de dos o más materiales, actualmente se estudian estos materiales.

Bioplástico de celulosa: Mostafa *et al.* (2015) usaron fibras de lino y algodón para la fabricación de un plástico biodegradable (acetato de celulosa), aplicando el método químico para la extracción de celulosa. Para caracterizar el bioplástico aplicaron la difracción de rayos X, Espectroscopia de Infrarrojo con Transformadas de Fourier (IR-FT), cromatografía de permeación en gel (GPC) y ensayos de biodegradación mediante compostaje y efectos químicos. Los resultados de la extracción de celulosa fueron de 81% en la fibra de lino y 54% de algodón en rendimiento. Para la caracterización del bioplástico, reportaron que el mejor método fue la acetilación usando ácido sulfúrico.

Materiales de almidón: Makhtar *et al.* (2013) crearon un plástico utilizando almidón termoplástico con *Tacca leontopetaloides*, explican que la ventaja de utilizar almidón hace que el método sea económico y que el material sea abundante y renovable, aunque se deteriore fácilmente bajo condiciones ambientales como la humedad. El método para la elaboración del bioplástico fue la vía seca, utilizando procesamiento térmico, aplicando altas temperaturas, combinando el almidón termoplástico con glicerina, glicol, xilitol, sorbitol y aceite de palma. Después de obtener el biomaterial se aplicaron los métodos de Difracción de Rayos X, Espectroscopía de Infrarrojo con Transformadas de Fourier (IR-FT), análisis termogravimétricos y análisis morfológicos, y realizando una prueba de biodegradación, la cual fue del 100%; siendo esta otra oportunidad más para la elaboración de bioplásticos por presentar propiedades físicas y morfológicas adecuadas para su aplicación.

Combinación de celulosa con almidón: Salmoral *et al.* (2000) utilizaron frijol como materia prima, ya que tiene alta calidad proteica y presencia de polímeros como el almidón y la celulosa, para la extracción de los polímeros se utilizó el método químico tanto como para el almidón como para la celulosa. Posteriormente se utilizó glicerol como plastificante para mejorar las propiedades del plástico. Como resultados se obtuvieron, buena calidad de biopelícula con alta resistencia a la tracción y baja capacidad de absorción de agua (de 17 a 21%).

Uso de plátano como materia prima: Alkarkhi *et al.* (2011) utilizaron el fruto de plátano para aumentar las aplicaciones del plátano, incluyendo la producción de harina de plátano cuando el fruto está inmaduro, de igual manera se utilizó el método químico para la extracción de almidón y celulosa para la elaboración de bioplástico. Los resultados expresan que la biopelícula presenta buenas propiedades fisicoquímicas, también se menciona la presencia de polímeros como el almidón y celulosa para el uso en aplicaciones biotecnológicas. Cabe mencionar que este estudio se realizó con el fruto de plátano, siendo este un alimento básico en muchos países (SIAP, 2016). Es por eso que en este proyecto se busca utilizar material que no sea de consumo y sea considerado como desecho (pseudotallo de plátano).

Después de conocer distintos estudios sobre la generación de bioplásticos, se sustenta que el uso de distintos polímeros presentes en materiales naturales, resulta una alternativa para elaborar estos productos.

V. Justificación

La creciente demanda de plásticos a nivel mundial ha aumentado de manera acelerada y es bien conocido que estos polímeros pueden tardar desde 100 hasta 1000 años en degradarse. Por lo tanto, es importante realizar nuevos estudios para la obtención de bioplásticos que pueden degradarse en menos tiempo. Hasta el momento solo se han empleado biopolímeros de plátano (distintas variedades), extraídos por métodos químicos, siendo un método que puede causar contaminación al ambiente por los desechos obtenidos en el proceso. Para evitar este tipo de contaminación se han implementado métodos de extracción y eliminación de polímeros, siendo estos los métodos húmedo (almidón), seco (celulosa) y enzimático (remoción de lignina), los cuales son amigables con el ambiente. Por lo que, en el presente estudio se emplearon dos polímeros presentes en pseudotallos de *Musa acuminata* AAA y *Musa sapientum* ABB para obtener un bioplástico, empleando como materia prima almidón y celulosa previamente tratada con enzimas, evaluándose por microscopía electrónica de barrido y sus propiedades mecánicas así como su biodegradabilidad.

VI. Pregunta de investigación

¿Se generará bioplástico con propiedades ópticas y mecánicas adecuadas para uso comercial, a partir de la combinación de polímeros extraídos de pseudotallos de *Musa acuminata* AAA y *Musa sapientum* ABB?

VII. Hipótesis

La combinación de almidón y celulosa extraídos de pseudotallos de *Musa acuminata* AAA y *Musa sapientum* ABB permitirán la obtención de un bioplástico con propiedades mecánicas y ópticas adecuadas para uso comercial.

VIII. Objetivo

Elaborar y caracterizar bioplástico obtenido a partir de almidón y celulosa tratada enzimáticamente de pseudotallos de dos especies de *Musa*.

IX. Objetivos específicos

- Caracterizar el material lignocelulósico de tres especies de *Musa*.
- Obtener los biopolímeros (almidón y celulosa) por método húmedo y seco, respectivamente y eliminación de lignina por tratamiento enzimático (con *P. chrysosporium*).
- Elaborar bioplástico por el método de extrusión y evaluar sus propiedades ópticas y mecánicas (comportamiento elástico, resistencia, color, transparencia, opacidad, tensión).
- Evaluar la biodegradabilidad del material

X. Metodología

10.1 Materia prima

10.1.1 Pseudotallo de plátano (*Musa acuminata* AAA, *Musa paradisiaca* AAB y *Musa sapientum* ABB)

Para el desarrollo de este proyecto se colectaron pseudotallos de *Musa acuminata* AAA, *Musa paradisiaca* AAB y *Musa sapientum* ABB (80 kg de c/u) recién cortados, en la región bananera del Soconusco del Estado de Chiapas (Mazatan y Tuxtla Chico, Chiapas). El material se cortó para obtener fragmentos de tamaño entre 5 y 10 cm, la extracción del almidón fue en estado fresco (recién cortado) y la extracción de la celulosa fue en estado seco (se secó a 39 °C por 6 días).

Muestra 1: “*Musa acuminata* AAA” (Enano gigante). Lugar: Agropecuaria “El Edén”, S. A. De C. V., Rancho El Carmen, Coliman, Agrícola. Marte R. Gómez, Municipio de Mazatan, Chiapas (14°54′44″N 92°24′58″W 414 m).

Muestra 2: “*Musa paradisiaca* AAB” (Macho), Lugar: Km. 6, Municipio de Tuxtla Chico, Chiapas (14°54′21″N 92°11′20″W 6 Km).

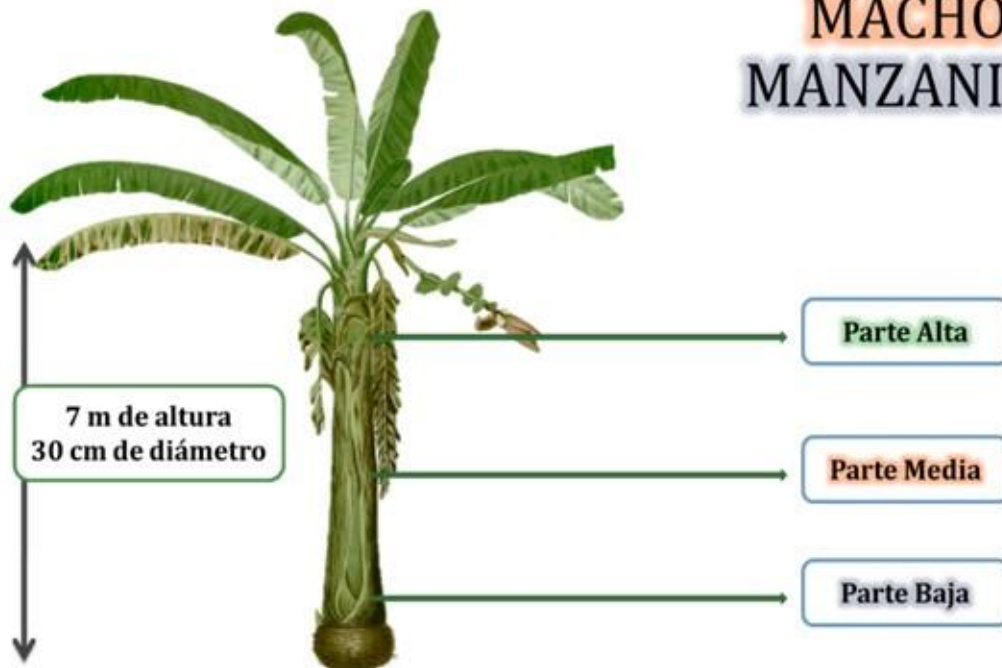
Muestra 3. “*Musa sapientum* ABB” (Manzanita o Dominico), Lugar: Km. 6, Municipio de Tuxtla Chico, Chiapas (14°54′21″N 92°11′20″W 6 Km).

10.2 Determinación de componentes lignocelulósicos y almidón

Se colectaron muestras de 3 especies de plátano (*Musa acuminata* AAA, *Musa paradisiaca* AAB y *Musa sapientum* ABB), esto se realizó para conocer que especie tiene mayor contenido en celulosa y almidón para su posterior uso en la elaboración del bioplástico.

Cada muestra (pseudotallo) se cortó en tres partes del pseudotallo (parte alta, media y baja), y se analizó el porcentaje de lignina, holocelulosa, hemicelulosa, celulosa y almidón de cada muestra (Fig. 14), basándose en las normas TAPPI 211 y 222 OM-02 (2002).

ENANO GIGANTE MACHO MANZANITA



Fuente. Modificado de O.S.A., 1880.

Figura 14. Esquema pseudotallo de plátano (Medidas y cortes).

10.2.1 Determinación de lignina

La cuantificación de lignina se realizó de acuerdo a lo reportado por Reséndiz (2015) la siguiente manera: Se pesó 1 g de pseudotallo fresco y se secó por 16 h a 60 °C, después se dejó reposar en 15 ml de una solución de H₂SO₄ al 72% (v/v) a 30 °C con agitación por 1 h. Posterior a eso se agregaron 56 ml de H₂O destilada lo que hace que la concentración del ácido disminuya hasta el 4% (p/p). Esta solución se digirió en una autoclave a 120 °C durante 1 h. Posteriormente se filtró con una membrana de microfibra de vidrio GF/C de 25 mm Marca Whatman previamente pesado y se lavó con agua destilada para someterla finalmente a un proceso de secado, en donde el peso final es la lignina ácido insoluble, cuya concentración (%) se obtuvo mediante la ecuación [1]:

$$\text{Lignina insoluble en ácido (\%)} = \frac{\text{Peso de la lignina}}{\text{Peso seco de la muestra}} \times 100 \quad [1]$$

10.2.2 Determinación de holocelulosa

Para la cuantificación de holocelulosa (Reséndiz, 2015) se pesó 2 g de muestra de pseudotallo de plátano y se colocó en un tubo de ensayo, se añadieron 63 ml de H₂O desionizada, posterior a esto se le añadió 0.2 ml de CH₃COOH y 0.6 g de NaClO₂; se dejó reposar y se mantuvo a baño María (70 – 80 °C), agitando un par de veces por 20 min. Después se colocó en un baño de agua-hielo hasta que la temperatura llegó a los 10 °C, se filtró con una membrana de microfibra de vidrio GF/C de 25 mm Marca Whatman previamente pesado, se lavó con H₂O desionizada hasta la eliminación de la coloración amarilla, se dejó secar a 60 °C y se pesó para su posterior análisis de resultados con la ecuación [2]:

$$\text{Holocelulosa (\%)} = \frac{\text{Peso inicial de muestra}}{\text{Pesofinal de muestra}} \times 100 \quad [2]$$

10.2.3 Determinación de celulosa

Para la cuantificación de celulosa (Reséndiz, 2015) se pesó 1 g de muestra de holocelulosa y se colocó en un tubo de ensayo, después se le añadieron 5 ml de NaOH al 17.5%, y posteriormente cada 5 min se añadió 2.5 ml de NaOH al 17.5% hasta consumir un total de 12.5 ml y se mantuvo 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente se añadieron 16.5 ml de H₂O desionizada a 20 °C para diluir de 17.5 a 8.3% el NaOH; se homogenizó y se mantuvo durante 1 h a temperatura ambiente. Se filtró con una membrana de microfibra de vidrio GF/C de 25 mm Marca Whatman previamente pesado y se lavó con 50 ml de NaOH al 8.3% y posteriormente con H₂O desionizada. Se repitió el lavado con NaOH (2 veces), y se detuvo la filtración y se dejó reposar en 7.5 ml de CH₃COOH al 10% y se dejó en contacto por 3 min, se volvió a conectar al vacío y se lavó con H₂O desionizada hasta la neutralidad del filtrado. Se secó a 105 °C durante 12 h y se pesó, para su posterior análisis de resultados con la ecuación [3]:

$$\text{Celulosa (\%)} = \frac{\text{Peso inicial de muestra}}{\text{Pesofinal de muestra}} \times 100 \quad [3]$$

10.2.4 Determinación de hemicelulosa

Para la cuantificación de hemicelulosa (Reséndiz, 2015) se restó el resultado de holocelulosa y celulosa obtenidos previamente (Ecuación [4]).

$$\text{Hemicelulosa} = \text{Holocelulosa (g)} - \text{Celulosa (g)} \quad [4]$$

10.2.5 Determinación de almidón

Para la determinación de almidón (Reséndiz, 2015) se colocaron 5 g de muestra seca de pseudotallo de plátano en un tubo de ensayo con 4 ml de H₂O desionizada. Se calentó en un baño de H₂O hirviendo por 15 min, hasta gelatinizar el almidón, después se dejó enfriar a temperatura ambiente y se adicionaron rápidamente 3 ml HClO₄ al 72%, se dispersó la muestra con una varilla de vidrio durante 1 min, se repitió la operación eventualmente después de 15 min (adicionar HClO₄). Se enjuagó con 20 ml de H₂O desionizada, se dejó sedimentar 24 h y se decantó el sobrenadante, se filtró con una membrana de microfibras de vidrio GF/C de 25 mm Marca Whatman previamente pesado y se extrajo el residuo para su posterior cálculo de resultados con la ecuación [5]:

$$\text{Almidón (\%)} = \frac{\text{Peso inicial de muestra}}{\text{Peso final de muestra}} \times 100 \quad [5]$$

10.3 Producción del hongo *Phanerochaete chrysosporium*

Para la producción del hongo se elaboraron 250 ml de medio PDA (Agar dextrosa papa), para después colocar de 20 a 25 ml en cajas Petri, estas se dejaron reposar 24 h a 30 °C para la prueba de esterilidad. Después se inoculó por el método de picadura con esporas de *Phanerochaete chrysosporium* (Fig. 15). Las condiciones óptimas de crecimiento del hongo se muestran en la Tabla 7:

Tabla 7. Condiciones óptimas de crecimiento de *Phanerochaete chrysosporium*

Medio de cultivo	PDA
Temperatura óptima	28 °C
Tiempo de incubación	10 días
Almacenamiento	4°C

Después del crecimiento del hongo, se procedió a cuantificar el contenido de proteínas al extracto enzimático de *Phanerochaete chrysosporium* por el método de Bradford.



Figura 15. Placa inoculada con esporas de *Phanerochaete chrysosporium*.

10.4 Producción de extracto enzimático

Se utilizaron 11 matraces con 5 g de salvado de trigo (tamaño de partícula 1000 μm) con 70% de humedad, utilizando 9.17 ml de medio de impregnación (Urea 0.5%, K_2HPO_4 2 g/l y $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3 g/l) (Fig. 16). Posteriormente se homogenizó el material y se esterilizó 15 min a 120 °C. Después se inoculó con *Phanerochaete chrysosporium*,

dejándolo crecer por 10 días. Se realizó la extracción enzimática utilizando 30 ml de Buffer KH_2PO_4 al 0.1 M, pH 4.5, por cada matraz (se realizó a temperatura ambiente, filtrando de manera manual y al instante), para la cuantificación de proteínas. Este estudio se hizo diariamente, sacrificando un matraz por día.



Figura 16. Matrazes inoculados con *Phanerochaete chrysosporium*.

10.4.1 Cuantificación de proteínas

Para la cuantificación de proteínas se realizó mediante el método colorimétrico de Bradford (Bradford, 1976). Para llevarlo a cabo, se utilizaron los extractos enzimáticos obtenidos en los 10 días de evaluación. La concentración de proteína se obtuvo mediante la ecuación de la recta obtenida al realizar una curva de calibración de albumina bovina 2 mg/ml (solución stock), las absorbancias se leyeron a 595 nm (Fig. 17).



Figura 17. Extractos enzimáticos de *Phanerochaete chrysosporium*

10.4.1.1 Preparación de reactivo Bradford

Se pesaron y se disolvieron 100 mg de azul brillante de Coomasie G-250 en 50 ml de etanol al 96%, se agregaron lentamente 100 ml de ácido fosfórico al 85%, se diluyó la solución resultante a un volumen de 1 l.

10.4.2 Procedimiento para la cuantificación de proteínas

Se agregaron 700 µl de reactivo Bradford a 100 µl de muestra (extracto enzimático). Se homogenizó la mezcla y se esperaron 2 min para leer la absorbancia a 595 nm contra un blanco de reactivo preparado con agua destilada.

10.4.3 Determinación de la actividad enzimática de Lignino-peroxidasas

La actividad de lignino-peroxidasas fue realizada por el método de Farrell *et al.* (2016) donde se presenta la oxidación del alcohol veratrílico a veratríl aldehído. Cada ml de mezcla de reacción tuvo las siguientes concentraciones: 40 mM de Buffer de succinatos pH 4, 40 mM de alcohol veratrílico, extracto enzimático (25 ml) y agua oxigenada al 0.03% (Tabla 8). La reacción se inició con el H₂O₂ y la formación del veratríl aldehído (realizándolo temperatura ambiente y con 1 min de incubación por muestra), esta determinación se realizó para las 10 muestras (10 días), leyéndose a 310 nm en espectrofotómetro.

Tabla 8. Volumen de soluciones para actividad enzimática (µl)

Soluciones	1	2	3	4	5
Buffer de succinatos	1600	1500	1400	1200	700
Alcohol veratrílico	200	200	200	200	200
Extracto enzimático	100	200	300	500	1000
H₂O₂	100	100	100	100	100

Una unidad de actividad enzimática (U), se define como la cantidad de enzima necesaria para oxidar 1 μmol de alcohol veratrílico por minuto en las condiciones de ensayo (sustrato, pH y temperatura).

10.5 Obtención del bioplástico

Este apartado presenta todos los constituyentes utilizados para la elaboración de un bioplástico utilizando almidón y celulosa de pseudotallos de *Musa acuminata* AAA y *Musa sapientum* ABB. El siguiente diagrama muestra cada uno de los pasos realizados (Fig. 18).

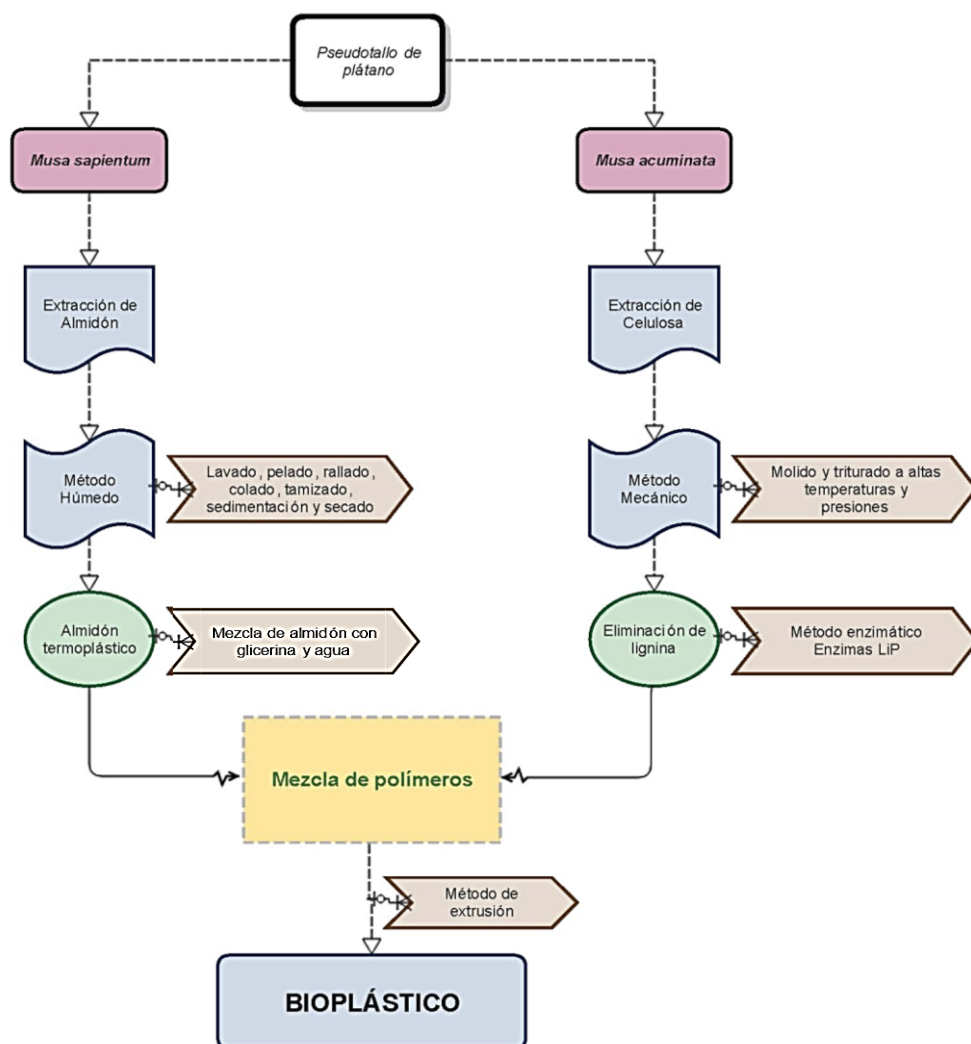


Figura 18. Diagrama de flujo “Proceso obtención de bioplástico”

10.5.1 Obtención de almidón de pseudotallo de plátano (*Musa sapientum* ABB)

Para la obtención de almidón (González *et al.*, 2016) presente en pseudotallo de *Musa sapientum* ABB se realizó lo siguiente: Se trituró el pseudotallo fresco (Fig. 19), obteniendo pequeñas porciones (3 a 5 cm), se lavó con hipoclorito de sodio al 10% y posteriormente se dejó reposar en solución de ácido cítrico al 5% durante 4 h.



Figura 19. Pseudotallo de *Musa sapientum* picado

Las muestras remojadas, se licuaron con agua en una proporción 1:1, por 5 min. El resultado se hizo pasar por un tamiz de 355 μm para dejar pasar el almidón deteniendo las fibras. El líquido obtenido se dejó reposar en hielo por 3 h y después se dejó sedimentar por 15 h.

Pasadas las 15 h, se decantó el sobrenadante y el sedimento obtenido (almidón) se dejó secar a temperatura ambiente (Fig. 20). En este estudio se procedió a modificar químicamente la estructura del almidón para convertirlo en almidón termoplástico para generar un polímero termoplástico.



Figura 20. Almidón seco.

10.5.2 Obtención de celulosa de pseudotallo de plátano (*Musa acuminata* AAA)

Para la obtención de celulosa (Benavides, 2014) presente en pseudotallo de *Musa acuminata* AAA se realizó lo siguiente: Se trituró el pseudotallo fresco, obteniendo pequeños fragmentos (5 a 10 cm), se lavó rápidamente con hipoclorito de sodio al 10%. Posteriormente se dejó secar por 5 días a temperatura ambiente.

Después de que se obtuvo el material seco, se molió para la obtención las fibras de celulosa con un tamaño de partícula de 1000 μm . Así mismo, se procedió a degradar la lignina presente en la celulosa, por el método enzimático.

10.5.1.1 Degradación de lignina: Método enzimático

Se utilizó 1 matraz con 374 g de salvado de trigo (tamaño de partícula 1000 μm) con un 70% de humedad, utilizando 685.91 ml de medio de impregnación (Urea 0.5%, K_2HPO_4 2 g/l y $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.3 g/l) (Fig. 21). Posteriormente se homogenizó el material y se esterilizó 15 min a 120 $^\circ\text{C}$. Después se inoculó con *Phanerochaete chrysosporium*, dejándolo crecer por 5 días y se realizó la extracción enzimática, utilizando 2.2 l de Buffer KH_2PO_4 al 0.1 M, pH 4.5 (se realizó a temperatura ambiente, filtrando de manera manual y al instante).

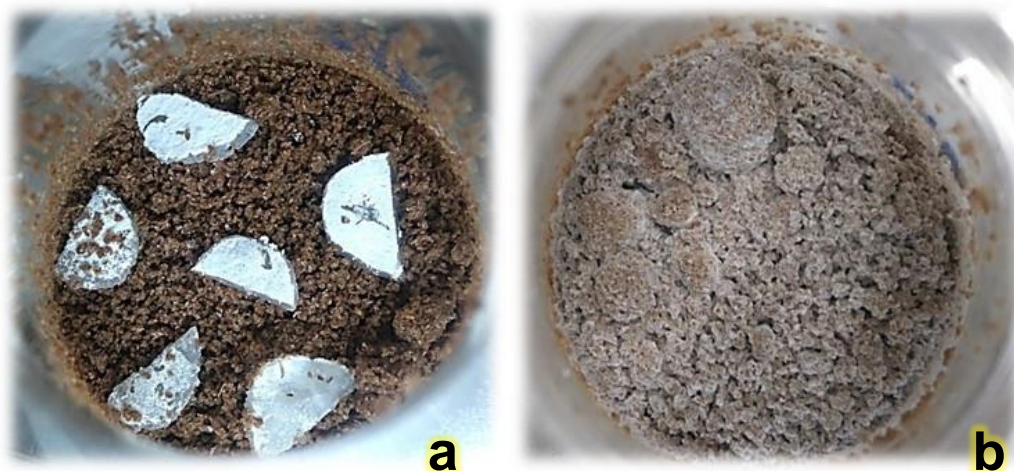


Figura 21. Inoculación con *Phanerochaete chrysosporium*. Día 0 (a) y Día 5 (b).

Después de obtener el extracto enzimático, se procedió a degradar la lignina adherida a la celulosa de *Musa acuminata* AAA por el método enzimático, dejando actuar

al extracto enzimático (2 l) por 48 h y 28 °C en el pseudotallo seco y tamizado a un tamaño de 1000 micras (Fig. 22). Posteriormente se esterilizó el material por 15 min a 120 °C, para evitar contaminación.



Figura 22. Celulosa de *Musa acuminata* AAA con extracto enzimático de *Phanerochaete chrysosporium* incubado por 48 h.

10.6 Determinación de humedad (almidón y celulosa)

Se pesó 1 g de cada muestra (almidón y celulosa) colocándolo en charolas de aluminio a peso constante cada una por triplicado (Fig. 23). Posteriormente se dejaron en una estufa a 100 °C ± 1, durante 3 h. Finalmente se pesó cada charola y se calculó la pérdida de peso como humedad, con la ecuación [6]:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{\text{Pérdida de humedad}}{\text{Peso de la muestra}} \times 100 \quad [6]$$



Figura 23. Almidón de *Musa sapientum* ABB (a) y celulosa de *Musa acuminata* AAA (b) en estado seco.

10.7 Combinación de polímeros

10.7.1 Condiciones preliminares y óptimas de procesamiento de bioplástico

Para llevar a cabo este proceso se utilizó un extrusor de 2.5 kg/h de capacidad, utilizando un tornillo simple con salida de filamentos y acoplado a un dado plano, con tres zonas de calentamiento y de igual manera se utilizó un mini-extrusor Atlas Polymer Evaluation products (LME).

Para la obtención del bioplástico, primero se obtuvieron filamentos generados con polímeros, utilizando el extrusor de tornillo simple con salida de filamentos (homogenización del material), para después llevar a cabo la obtención de gránulos plastificados (pellets), los cuales se generaron pasando el filamento obtenido por un cortador Beutelspacher de 2 Å, para después elaborar el bioplástico con el extrusor de tornillo simple acoplado a un dado plano.

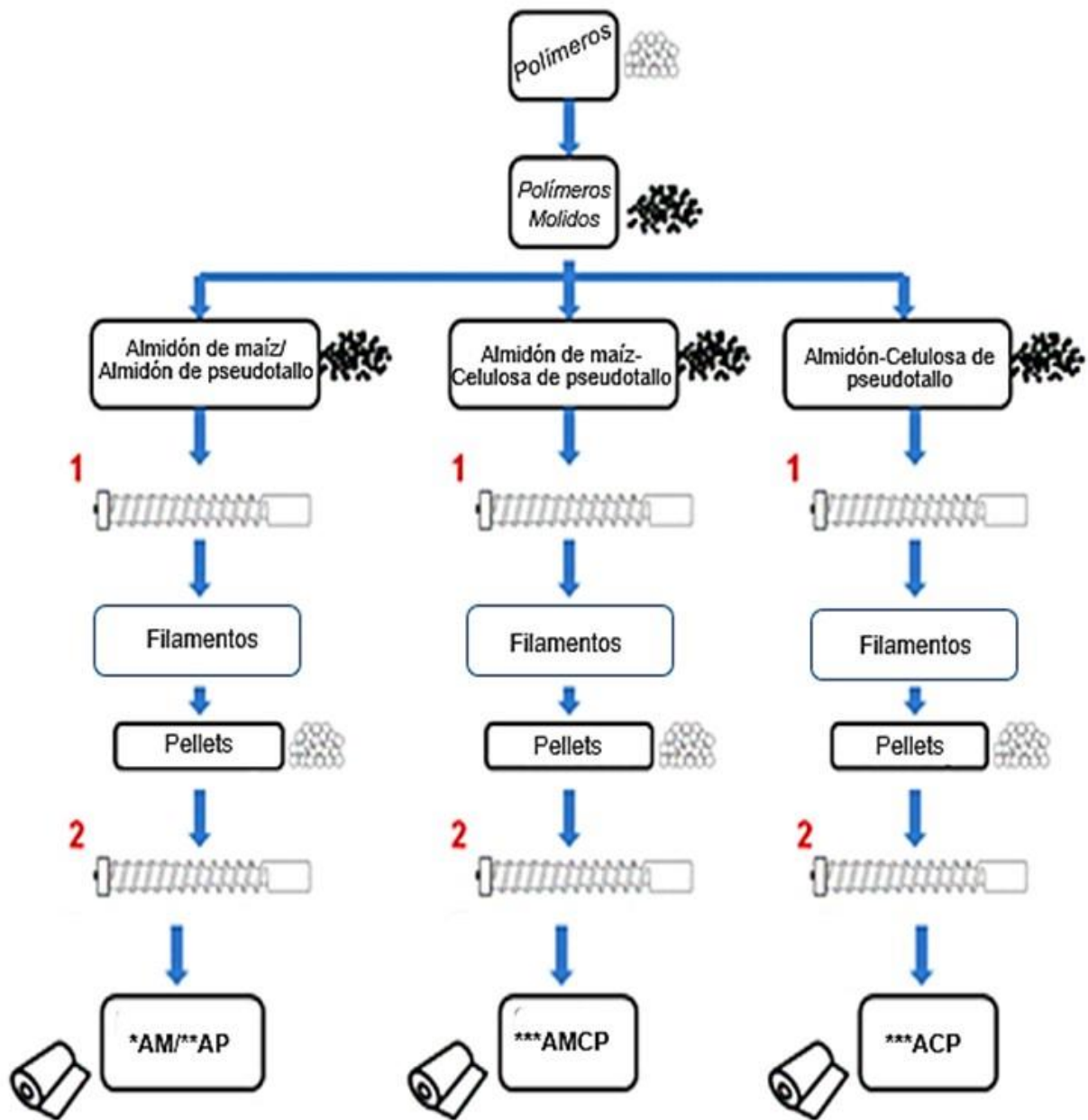
Las condiciones óptimas de procesamiento se determinaron después de hacer pruebas preliminares utilizando almidón de maíz, celulosa de pseudotallo de *Musa acuminata*, glicerina (plastificante) y agua. Las mezclas se homogenizaron manualmente procesándose a distintas temperaturas (Anexo 2).

Después se realizaron combinaciones de los polímeros de interés, almidón y celulosa de *Musa acuminata* AAA y *Musa sapientum* ABB, glicerina y agua para después obtener los gránulos plastificados y posteriormente elaborar el bioplástico, a condiciones estandarizadas (Tabla 9 y Fig. 24).

Tabla 9. Condiciones óptimas para la obtención de bioplástico

Combinación de polímeros	Almidón (Maíz, <i>Musa sapientum</i> ABB)	Glicerina	H ₂ O	Celulosa (<i>Musa acuminata</i> AAA)	Peletizadora			Mini-extrusor	
					T °C / rpm			T °C / rpm	
Prueba 1 (AM) ^a	20 g	5.71 ml	2.85 ml	--	90 *1	100 *2	115 *3	190 *1	200 *2
					60			70	
Prueba 2 (AM-CP) ^b	74.28 g	22.84 ml	11.42 ml	5.7 g	90 *1	100 *2	115 *3	190 *1	200 *2
					60			70	
Prueba 3 (AP) ^c	20 g	5.71 ml	2.85 ml	--	90 *1	100 *2	115 *3	190 *1	200 *2
					60			70	
Prueba 4 (ACP) ^d	111.42 g	34.26 ml	17.13 ml	8.55 g	90 *1	100 *2	115 *3	190 *1	200 *2
					60			70	

(a). Almidón de maíz, **(b).** Almidón de maíz y celulosa de *Musa acuminata* AAA, **(c).** Almidón de *Musa sapientum* ABB, **(d).** Almidón y Celulosa de *Musa sapientum* ABB- *Musa acuminata* AAA. **Peletizadora:** *1. Temperatura inicial; *2. Temperatura del tornillo; *3. Temperatura final. **Mini-extrusor:** *1. Temperatura inicial; *2. Temperatura final.



*1. Formación de filamentos. *2. Formación de biopelícula. **AM**. Almidón de maíz. **AP**. Almidón de pseudotallo de *Musa sapientum* ABB. **AMCP**. Almidón de maíz y celulosa de pseudotallo de *Musa acuminata* AAA. **ACP**. Almidón de pseudotallo de *Musa sapientum* ABB y celulosa de pseudotallo de *Musa acuminata* AAA.

Figura 24. Diagrama general para la obtención de bioplástico.

10.8 Propiedades mecánicas y ópticas

Las películas se colocaron en un desecador a una humedad relativa de $50 \pm 5\%$, a temperatura de 25 ± 2 °C, por 48 h, esto basado en la norma ASTM F392/F392M-11 (2016). Posterior a esto se evaluaron las propiedades mecánicas y ópticas: espesor, resistencia a la tensión, elongación y color.

Para el espesor se utilizó un micrómetro digital EJ: Cady y Co. Modelo DTT. Para resistencia a la tensión y elongación se utilizó un analizador de textura TA-XT2 (Texture Technologies Co., Scarsdale, NY, EUA) de acuerdo a la ASTM F392/F392M-11, (2016). Se empleó una carga de 500 N y una velocidad de prueba de 8.33 mm/s. Se utilizaron probetas de 60 x 10 mm. Las muestras se analizaron en dirección máquina (DM). La resistencia a la tensión fue expresada en MPa y se analizaron 10 réplicas por muestra y para el porcentaje de elongación de la misma manera.

Para determinar las propiedades ópticas de las películas obtenidas, se midió transmitancia de la luz UV-Vis realizando un barrido de 200-800 nm a una velocidad media de 600 nm/s. Para el análisis se utilizaron películas AM, AMCP, AP y ACP, con una medida de 1 x 5 cm y fueron colocadas directamente en un espectrofotómetro UV-Vis Modelo Cary 50 Bio (EUA). Los valores se expresaron como transmitancia. Posteriormente se calculó la diferencia de color entre las películas (ΔE).

El análisis de color se realizó utilizando un colorímetro *CR-300* Konica Minolta (EUA). Los resultados se expresaron en valores CIE *Lab*, donde L^* indica luminosidad, a^* y b^* son las coordenadas de cromaticidad (indican direcciones de colores). La coordenada $+a^*$ es la dirección del rojo, $-a^*$ es la dirección del verde, $+b^*$ es la dirección del amarillo y $-b^*$ es la dirección del azul. Se hicieron 10 repeticiones por muestra. El diferencial de color (ΔE) se calcula con los datos CIE *Lab* de color, indicando el cambio de color y se calculó con la ecuación [7].

$$\Delta E = ((\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2 + (\Delta L^*)^2)^{0.5} \quad [7]$$

10.9 Espectrometría Infrarroja con Transformadas de Fourier (IR-FT)

Este estudio se realizó con un Espectrómetro Infrarrojo Thermo SCIENTIFIC NICOLET iS50 FT-IR, acoplado a un accesorio ATR Smart iTX, utilizando el software OMNIC.

Las biopelículas se cortaron en círculos pequeños de 0.5 cm de diámetro aproximadamente, y se montaron en el equipo, sin modificar la estructura de ninguna de las muestras. Para este análisis se utilizaron las muestras siguientes: AM, AMCP, AP y ACP.

10.10 Microscopio Electrónico de Barrido

Para realizar esta prueba se utilizó un Microscopio Electrónico de Barrido, Marca TOPCON, Modelo SM-510, un secador al Punto Crítico (CO₂), marca SPI SUPPLIES, modelo SPI-DRY CPD y un depositador de metal (oro-paladio) marca DENTON VACCUM, modelo DESK II.

Las biopelículas (AM, AMCP, AP y ACP) se secaron por 18 h, para su posterior montaje en un cilindro de aluminio utilizando cinta con adhesivo de ambos lados, después se cubrieron con una capa de Au-Pd de aproximadamente 20 nm. Las condiciones de observación fueron a un alto vacío de 6 KV, distancia trabajo 15 mm, apertura 100 µm, Ss 7.

10.11 Prueba de biodegradabilidad

Para llevar a cabo la prueba de biodegradabilidad se pesaron 4 g de cada muestra, y se probaron tres tratamientos: en macetas con tierra con una planta de agave, en recipientes con lombricomposta y recipientes con composta. Estos se regaron cada 3 días para conservar el sistema húmedo hasta el final del experimento. Y cada semana se observó el cambio de estructura de la muestra tomando fotografías (AM, AMCP, AP y ACP).

XI. Resultados y discusión

11.1 Componentes lignocelulósicos presentes en pseudotallo de plátano

Las relaciones de almidón y celulosa obtenidas en las determinaciones preliminares fueron las siguientes:

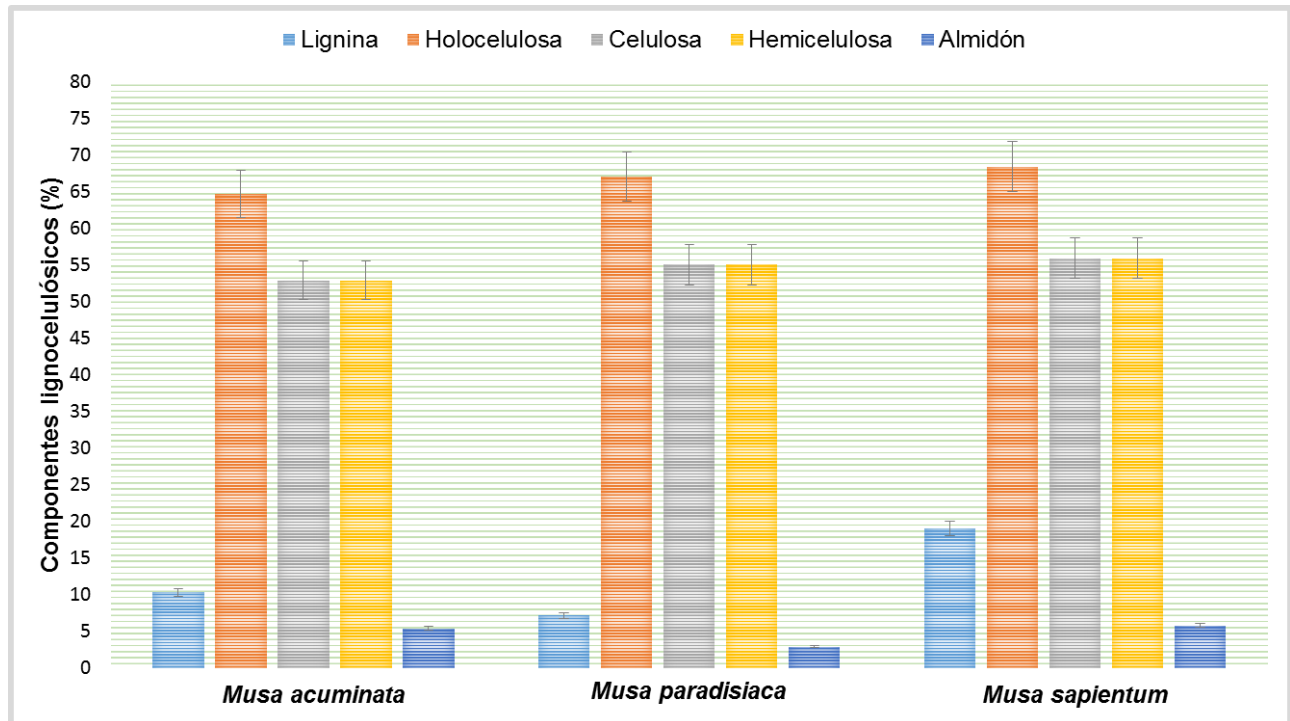


Figura 25. Compuestos lignocelulósicos y almidón presentes en *Musa acuminata* AAA, *Musa paradisiaca* AAB y *Musa sapientum* ABB presentes en el Estado de Chiapas.

En la Fig. 25 se indica el contenido de lignina, celulosa, hemicelulosa y almidón de los residuos lignocelulósicos presentes en *Musa acuminata* AAA, *Musa paradisiaca* AAB y *Musa sapientum* ABB en base seca. Donde se observan los siguientes porcentajes:

Para *Musa acuminata* AAA se observa un alto porcentaje de componentes lignocelulósicos, donde se involucran la lignina con un 17.61%, un 52.69% de celulosa y un 2.56% de hemicelulosa y almidón con 5.38%. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Flores-Gorosquera *et al.* (2004) quienes evaluaron compuestos lignocelulósicos de *Musa acuminata* AAA obteniendo los siguientes resultados, 18.6% de lignina, 63.9% de celulosa y 1.3% de hemicelulosa. Para el caso de la lignina, Paz (2011)

evaluó a *Musa acuminata* AAA obteniendo un valor de 12.87%, el cual indica un porcentaje menor al obtenido en este estudio.

En el caso de *Musa paradisiaca* AAB se obtuvieron los siguientes porcentajes, lignina con 7.15%, similar a lo obtenido por Gogoi *et al.* (2014) quienes reportan 8.57%, la holocelulosa, lo cual incluye 55.06% de celulosa, 2.66% de hemicelulosa y almidón con 2.89%.

De igual manera Abdul *et al.* (2012) analizaron componentes lignocelulósicos de *Musa paradisiaca* AAB, presentando 63.9% de celulosa, 1.3% de hemicelulosa. En *Musa sapientum* ABB se observó la lignina con 19.01%, 54.28% de celulosa, 3.81% de hemicelulosa y almidón con 7.47%.

Estos resultados indican que *Musa acuminata* AAA proporciona un porcentaje menor de lignina el cual es necesario degradar al momento de procesar la celulosa. Mientras que para almidón, la especie que presenta mayor porcentaje es *Musa sapientum* ABB. Estos polímeros se utilizaron para el proceso de generación del bioplástico (Fig. 26). A pesar de que *M. paradisiaca* AAB tuvo mayor contenido de celulosa y menor contenido de lignina, ésta quedó descartada por ser menos cultivada en la región.



Figura 26. Combinación de polímeros

Almidón “*Musa sapientum* ABB” y Celulosa “*Musa acuminata* AAA”

11.2 Cultivo de hongo *Phanerochaete chrysosporium*

Se llevó a cabo el cultivo de hongo *Phanerochaete chrysosporium* para realizar la cuantificación de proteínas para después proceder con la determinación de la actividad enzimática, esto se realizó cada 24 h por 10 días. Los resultados obtenidos en este análisis fueron los siguientes:

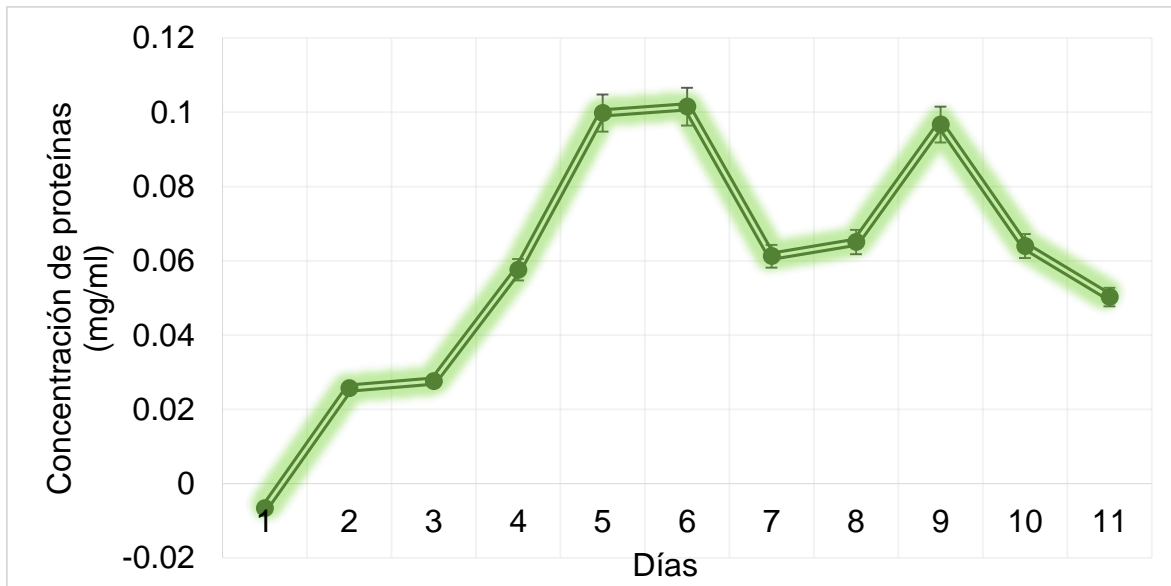


Figura 27. Dinámica de la producción de proteínas de *Phanerochaete chrysosporium* en salvado de trigo (Método de Bradford).

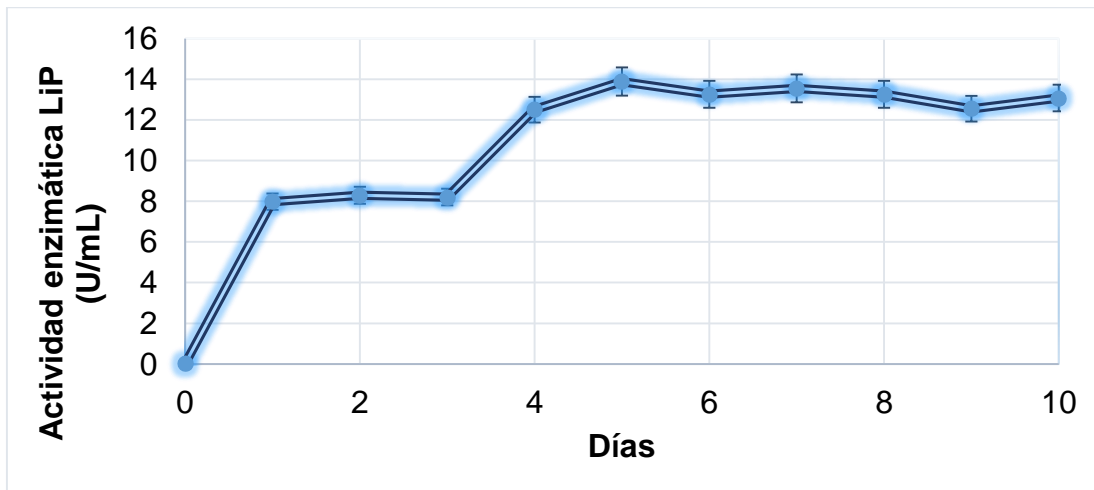


Figura 28. Dinámica de la actividad enzimática de LiP de *Phanerochaete chrysosporium* en salvado de trigo.

En estos resultados se presenta una concentración de proteínas mayor en el día 5 siendo de 0.1014 mg/ml (Fig. 27). Después de observar esta dinámica se procedió a llevar a cabo la determinación de enzimas ligninolíticas (LiP). Teniendo una actividad enzimática de 13.88 U LiP/ml, tomando en cuenta la fase log del crecimiento del hongo, indicando así que en el día 5 se tiene una mayor concentración de proteínas y una mayor actividad enzimática (Fig. 28).

Estos resultados son comparables con el estudio de Fernández *et al.* (2009) donde evalúan la inmovilización de enzimas de hongos incluyendo a *Phanerochaete chrysosporium* utilizando salvado de trigo, muestran una concentración de proteínas del 0.16 ± 0.2 mg/ml en el día 4.

A la fecha, no hay reportes de la actividad enzimática de *Phanerochaete chrysosporium* utilizando salvado de trigo; Arboleda *et al.* (2003) reportan actividad LiP utilizando hoja y olote de maíz, obteniendo como resultado 20 U LiP/ml en el día 7, siendo esto comparable con los resultados obtenidos en este trabajo en el cual se empleó salvado de trigo.

Con base en los resultados se determinó obtener los extractos a los 5 días para hacer el tratamiento de eliminación de lignina presente en pseudotallo de *Musa acuminata* AAA, el cual fue realizado con un tratamiento enzimático durante 48 h a 28 °C.

11.3 Determinación de lignina

Los resultados obtenidos en la determinación de lignina presentes en la celulosa del pseudotallo de *Musa acuminata* antes y después del tratamiento enzimático, fueron los siguientes:

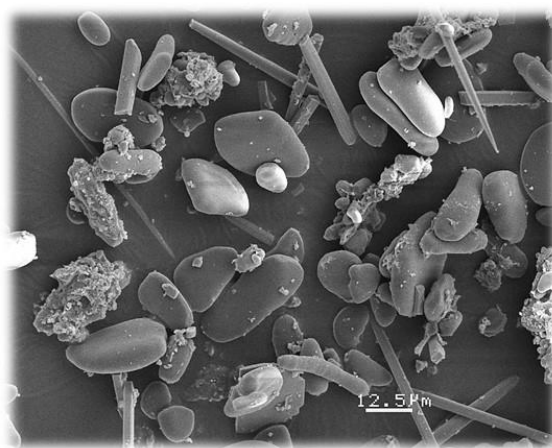
Tabla 10. Determinación de lignina presente en la celulosa del pseudotallo de *Musa acuminata* AAA

Tratamiento enzimático	Porcentaje de lignina
Control	17.61 ± 1.04%
Muestra	15.89 ± 0.93%

Estos resultados indican que se presentó una degradación de lignina del 1.72%, este valor se atribuye principalmente a las enzimas presentes en el extracto enzimático AAA (Día 5) de *Phanerochaete chrysosporium* (13.88 U LiP/ml) el cual interactuó con la celulosa del pseudotallo de *Musa acuminata* por 48 h (Tabla 10). Aún no se ha evaluado a profundidad la eliminación de lignina en pseudotallo de *Musa acuminata* AAA, pero si en otras materias primas tales como aserrín y tallos de morera (Villa *et al.*, 2012), presentando un 23.7 y 23.2% de lignina respectivamente, y tratada enzimáticamente por 10 días utilizando de igual manera *Phanerochaete chrysosporium* se obtiene una disminución de lignina del 1.89 y 0.95%. Estos resultados son similares a los obtenidos en este estudio, cabe mencionar que el material se incubó solo 2 días, mostrando un potencial en el tratamiento enzimático para la generación de bioplástico, aunque se requerirá hacer más estudios para optimizarlo.

11.4 Rendimiento y porcentaje de humedad de los polímeros

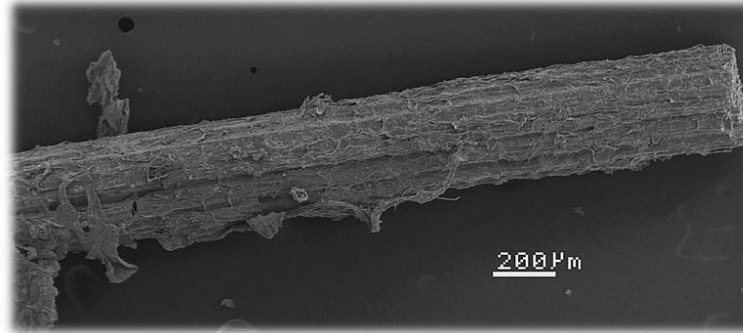
El rendimiento de estos polímeros fue evaluado en base seca, tomando en cuenta los kg de pseudotallo de plátano fresco que fueron procesados. Para el caso de almidón se obtuvo un rendimiento del $3.77 \pm 0.23\%$, iniciando con 46.55 kg de pseudotallo fresco de *Musa sapientum* ABB, obteniendo 176 g de almidón base seca el cual presentó gránulos de color blanco-amarillo (Fig. 29).



Fuente. Laboratorio MEB ECOSUR-Unidad Tapachula.

Figura 29. Gránulos de almidón de pseudotallo de *Musa sapientum* ABB (MEB).

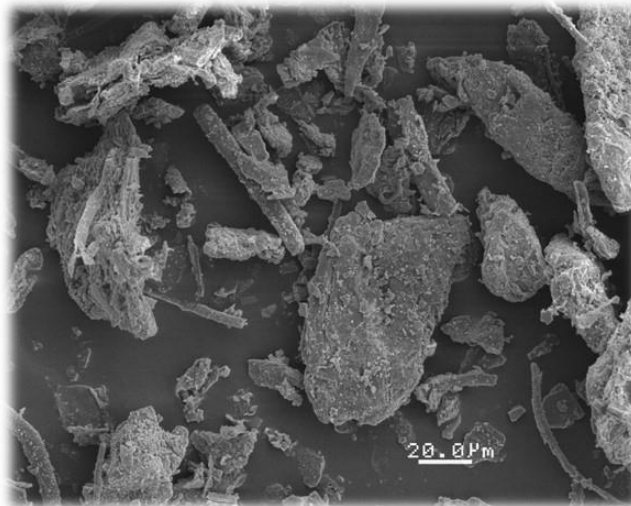
Para la celulosa se obtuvo un rendimiento del $35.1 \pm 1.56\%$, iniciando con 43.5 kg de pseudotallo fresco de *Musa acuminata* ABB; finalizando con la obtención de 15.9 kg de celulosa base seca el cual presentó fibras de color café-verde (Fig. 30).



Fuente. Laboratorio MEB ECOSUR-Unidad Tapachula.

Figura 30. Fibra de pseudotallo de *Musa acuminata* AAA (MEB).

Después de obtener el rendimiento de cada uno de los polímeros presentes en pseudotallos de *Musa acuminata* AAA y *Musa sapientum* ABB, se utilizaron 176 g de almidón y 65.55 g de celulosa para las pruebas preliminares y para la elaboración del bioplástico (Fig. 31).



Fuente. Laboratorio MEB ECOSUR-Unidad Tapachula.

Figura 31. Combinación de polímeros. Almidón de *Musa sapientum* ABB y celulosa de *Musa acuminata* AAA (MEB).

Cordeiro *et al.* (2004) mencionan que el rendimiento de almidón presente en pseudotallo de plátano es de 3 a 5%. En el caso de celulosa, Méndez (2010) menciona que se puede obtener de un 30 a 50% de rendimiento, indicando de esta manera que los rendimientos encontrados en este estudio son similares a los ya reportados.

De igual manera se obtuvo el porcentaje de humedad de los polímeros para conocer las condiciones óptimas del material obtenido antes de su procesamiento, teniendo como resultado $7.96 \pm 0.03\%$ para almidón y $2.34 \pm 0.05\%$ para celulosa.

11.5 Combinación de polímeros

11.5.1 Condiciones óptimas de procesamiento y obtención de biopelícula

Se procedió a realizar la combinación de los polímeros, almidón de maíz (AM), almidón de maíz y celulosa de pseudotallo de *Musa acuminata* AAA (AMCP), almidón de pseudotallo de *Musa sapientum* ABB (AP) y almidón y celulosa de pseudotallo de *Musa acuminata* AAA - *Musa sapientum* ABB (ACP), esta metodología fue similar a la utilizada por Makhtar *et al.*, (2013) (Tabla 11 y Fig. 32):

Tabla 11. Composición de biopelículas

Polímeros	Almidón (%)	Glicerina (%)	H ₂ O (%)	Celulosa (%)
AM	70	20	10	--
AMCP	65	20	10	5
AP	70	20	10	--
ACP	65	20	10	5

Polímeros: Almidón de maíz (AM), almidón de maíz y celulosa de pseudotallo de *Musa acuminata* AAA (AMCP), almidón de pseudotallo de *Musa sapientum* ABB (AP) y almidón y celulosa de pseudotallo de *M. acuminata* AAA-*M. sapientum* ABB (ACP).

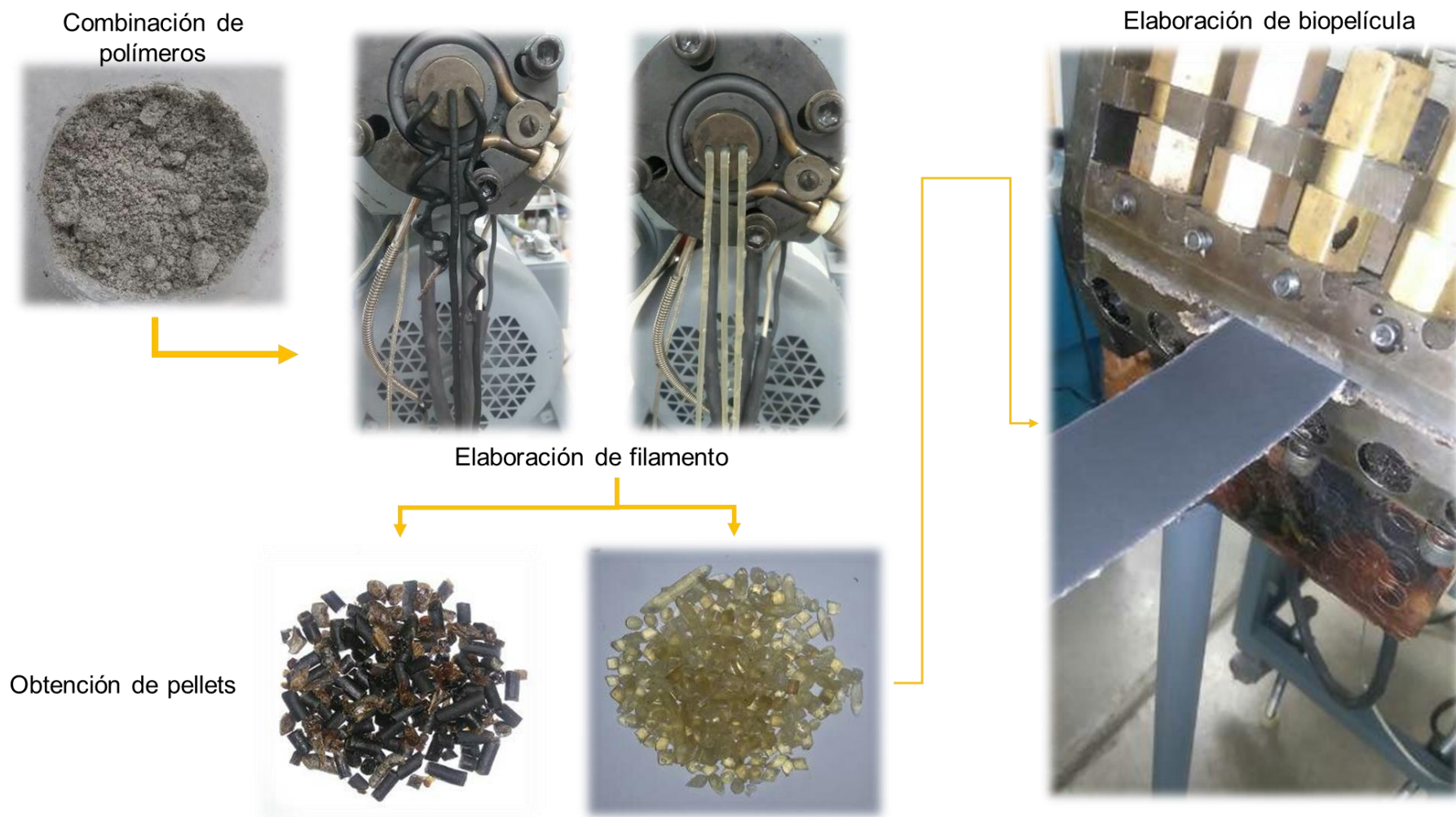


Figura 32. Proceso de extrusión

11.6 Propiedades mecánicas y ópticas

Las propiedades mecánicas evaluadas fueron las siguientes (Tabla 12):

Tabla 12. Propiedades mecánicas de biopelículas			
Propiedades mecánicas	Resistencia a la tensión (MPa)	Elongación (%)	Módulo de Young (MPa)
AM (Control)	1.63 ± 0.23	53 ± 25.17	6.32 ± 0.65
AMCP	1.10 ± 0.15	27.99 ± 14.72	5.26 ± 1.46
AP	2.30 ± 0.14	77.93 ± 3.80	24.26 ± 2.88
ACP	1.28 ± 0.42	81.63 ± 3.52	15.46 ± 3.67

Biopelículas: Almidón de maíz (AM), almidón de maíz y celulosa de pseudotallo de *Musa acuminata* AAA (AMCP), almidón de pseudotallo de *Musa sapientum* ABB (AP) y almidón y celulosa de pseudotallo de *M. acuminata* AAA-*M. sapientum* ABB (ACP).

Estos resultados indican que el material con mayor resistencia a la tensión es el que presenta 70% de almidón de pseudotallo de plátano (AP), teniendo un valor de 2.30 ± 0.14 MPa, y el que presenta menor resistencia a la tensión es el que presenta 65% de almidón de maíz y 5% de celulosa de pseudotallo de plátano (AMCP), con un valor de 1.10 ± 0.15 MPa.

El material compuesto de 65% de almidón y 5% de celulosa de pseudotallo de plátano (ACP), presentó un valor de 1.28 ± 0.42 MPa, siendo este un valor intermedio comparado a los valores de los otros materiales mencionados más adelante. Para el caso del porcentaje de elongación, el material que presenta un mayor porcentaje, fue el material ACP, con un 81.63 ± 3.52% de elongación, y el más bajo fue el material compuesto de AMCP presentando un porcentaje de elongación de 27.99 ± 14.72. Lo que

indica que el material puede estirarse y recuperar su longitud original y presenta porcentaje menor de elasticidad.

Para el Módulo de Young (Elasticidad), se observó que el comportamiento fue alto en los materiales compuestos de polímeros presentes en pseudotallo de *M. acuminata* AAA y *M. sapientum* ABB, teniendo los valores más altos 24.26 ± 2.88 y 15.46 ± 3.67 MPa (AP y ACP), en comparación con los valores presentes en AM y AMCP, 6.32 ± 0.65 y 5.26 ± 1.46 MPa. Cuando se utilizan fibras los materiales tienden a exhibir una rigidez mayor, por lo tanto son más resistentes que duros, y no tienden a deformarse bajo tensión. Por lo que el material obtenido en este proyecto presenta características de un material rígido (resistencia a la tensión), también presenta un alto porcentaje de elongación (deformación) y menor elasticidad.

Aila-Suárez *et al.*, (2013) evaluaron las propiedades mecánicas de una biopelícula elaborada con almidón de chayote y fibras de celulosa de algodón (p/p, en base seca, 4%), glicerina (2%) y agua, presentando valores de resistencia a la tensión de 0.5 a 1.1 MPa, estos valores muestran que el material obtenido en este estudio presenta un aumento en la resistencia a la tensión, debido a la presencia de un mayor alargamiento de los almidones presentes en pseudotallo de plátano. De igual manera evaluaron el porcentaje de elongación, el cual va desde el 25 al 61%, estos valores comparados con los obtenidos en este estudio, son menores, esto indica que el material elaborado con polímeros de pseudotallo de plátano presenta un mayor alargamiento y por consecuencia se obtiene mayor elongación. Y por último evaluaron el Módulo de Young, donde presentan valores de 0.6 a 2.6 MPa, comparándolo con los resultados obtenidos en este estudio, se indica que el material elaborado con polímeros de pseudotallo de plátano, presentan mayor elasticidad, alcanzando hasta 24.26 ± 2.88 MPa, lo que demuestra que el material es resistente a la ruptura y que los polímeros presentan una mayor distribución en todo el material.

Realizando una revisión en la literatura (Tabla 13), se puede decir que el bioplástico que se obtuvo tiene características similares en el caso de Resistencia a la tensión y el Porcentaje de elongación, pero presentando algunas diferencias con respecto al Módulo de Young.

Tabla 13. Estudios realizados

Materia prima	Resistencia a la tensión (MPa)	Elongación (%)	Módulo de Young (MPa)	Referencia
Almidón y celulosa de <i>Musa acuminata</i> y <i>Musa sapientum</i>	1.10 – 2.30	27 – 81	5.26 – 24.26	Este trabajo
Harina de tapioca/Fibras de celulosa <i>Sesbania javanica</i>	15 – 25	1.5 - 3	1300 - 1500	Kampangkaew <i>et al.</i> (2014)
Almidón y celulosa de <i>Manihot esculenta</i>	1.8 – 4.8	29.8 – 92.4	16.8 – 84.3	Teixeira <i>et al.</i> (2009)
Almidón de maíz/Celulosa de banana	1.73	4.50	80.88	Guimarães <i>et al.</i> (2009)
Almidón de papa/Nanocelulosa comercial	16.4	8.8	914.9	Hietala <i>et al.</i> (2013)
Almidón de <i>Tamarindus indica</i> /Celulosa comercial	1.42 – 7.45	175 - 553	N/P	Sudharsan <i>et al.</i> (2015)
Almidón de maíz/fibras de celulosa <i>Bromelia pinguin</i>	1.71 – 6.79	12 - 264	20 - 47	Miranda <i>et al.</i> (2015)

Después de observar cada uno de los estudios, los materiales obtenidos en este trabajo, se asemejan a los de Miranda *et al.* (2015), Sudharsan *et al.* (2015), Guimarães *et al.* (2009) y Teixeira *et al.* (2009) para el caso de resistencia a la tensión. Estos datos similares se explican por el almidón que se utilizó para la generación de bioplástico, en todos los casos se presenta un alargamiento de la molécula de almidón siendo esto representativo en esta propiedad.

Para el caso del porcentaje de elongación y el Módulo de Young, Teixeira *et al.* (2009) y Miranda *et al.* (2015) presentan valores similares al de este estudio.

Teniendo como base estos estudios relacionados con la generación de un material compuesto (bioplástico) se puede definir que el material obtenido de almidón y celulosa de pseudotallo de plátano, presenta potencial para ser utilizado para la creación de distintos materiales plásticos.

11.7 Propiedades ópticas

Los resultados obtenidos en la evaluación de color fue el siguiente (Tabla 14):

Tabla 14. Color de las biopelículas					
Muestra	L^*	a^*	b^*	ΔE	COLOR
AM	37.48 ± 1.15	6.77 ± 1.05	15.86 ± 0.35	13.03	CAFÉ CLARO
AMCP	28.51 ± 1.94	1.05 ± 0.48	7.40 ± 0.55		CAFÉ
AP	22.38 ± 0.84	3.22 ± 0.61	5.19 ± 1.18	3.23	CAFÉ/NEGRO
ACP	20.01 ± 2.39	2.03 ± 0.69	3.34 ± 0.97		NEGRO

Los parámetros de color de cada uno de los materiales evaluados, presentan en general un aspecto oscuro, en el caso del material de interés (ACP, L^* : 20.01 ± 2.39 , a^* : 2.03 ± 0.69 y b^* : 3.34 ± 0.97), presenta un color negro principalmente a la presencia de productos de oxidación de compuestos fenólicos en el pseudotallo de *Musa acuminata* AAA, explicándose por la poca degradación de lignina por el método enzimático utilizado (Fig. 33). El color presente en el material no afecta de ninguna manera para posibles aplicaciones, ya que se puede utilizar para la protección de productos sensibles a la luz y evitar oxidaciones del mismo.



Figura 33. Diferencia de color entre biopelículas. **a).** Almidón de maíz, **b).** Almidón de maíz y celulosa de pseudotallo de plátano y **c).** Almidón y celulosa de pseudotallo de plátano.

Nur *et al.*, (2013) realizaron estudios de color de biopelículas obtenidas de harina de plátano, resultando valores de L^* de 83.60 a 62.55, a^* de 1.78 a 2.41 y b^* de 0.93 a 12.50, tornándose a colores más cercanos al amarillo-blanco, comparándolo con los resultados encontrados en este estudio, L^* : 20.01 ± 2.39 , a^* : 2.03 ± 0.69 y b^* : 3.34 ± 0.97 , presentando colores más cercanos al café-negro, esto se debe principalmente al proceso de obtención de los polímeros, especialmente la celulosa, ya que se tratan con NaCl, NaOH, entre otros compuestos químicos, ayudando a que el color del material vaya de tonos oscuros a tonos claros (blanqueamiento del material) (Yucang *et al.*, 2015).

De igual manera se realizó la prueba de espectrofotometría UV-VIS, para observar su capacidad de transmitir la luz, tomar color y disponer de brillo, resultado el siguiente espectro (Tabla 15 y Fig. 34):

Tabla 15. Espesores de las biopelículas

Muestra	Espesor (mm)
AM	0.58
AMCP	0.57
AP	0.40
ACP	0.42

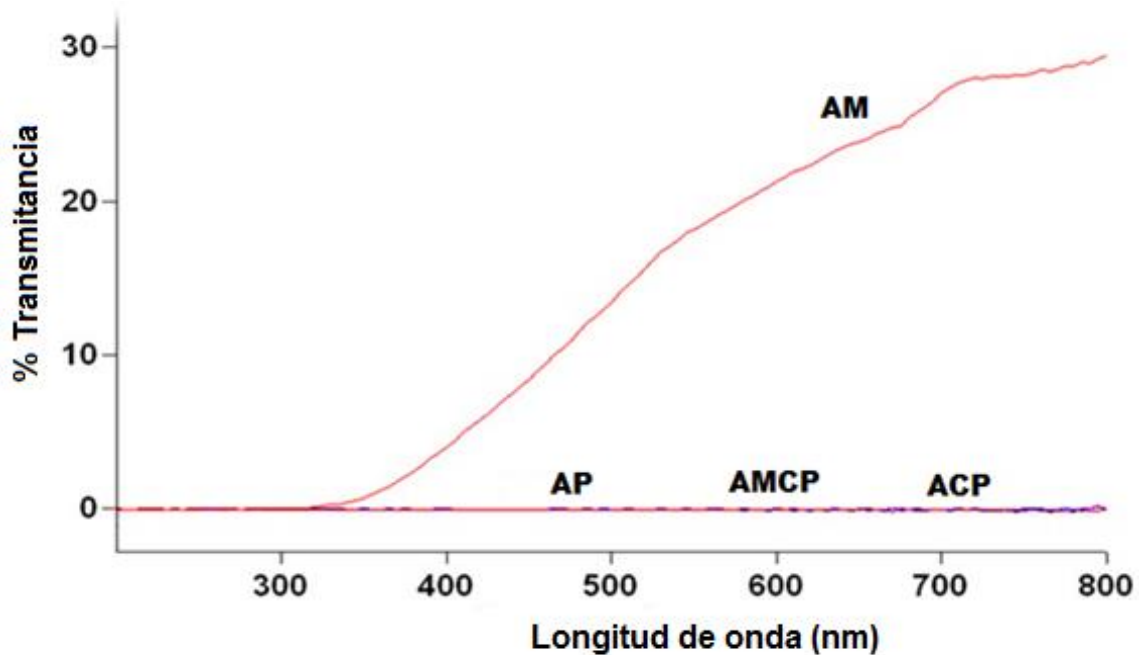


Figura 34. Barrido espectral UV-VIS de biopelículas AM, AMCP, AP y ACP.

El análisis se realizó para observar la magnitud que expresa la cantidad de energía que atraviesa un cuerpo en la unidad de tiempo (Transmitancia) en las películas en una zona de longitud de onda de luz de 200 a 800 nm a una velocidad de escaneo de 240 nm/min, teniendo como resultado un 30% de transmitancia en el caso de la muestra AM y para AMCP, AP y ACP, el resultado fue nulo, esto por la adición de fibras de celulosa reduciendo así la transmitancia de luz de las películas preparadas, indicando que la dispersión de celulosa fue homogénea y por las propias características del material,

siendo esto base para posibles aplicaciones en el mercado (protección de productos con alta sensibilidad a la luz).

11.8 Espectrometría infrarroja con Transformadas de Fourier (IR-FT)

La espectrometría infrarroja con transformadas de Fourier se realizó para investigar la estructura química de las biopelículas obtenidas AM, AMPC, AP y ACP, presentando los siguientes resultados (Fig. 35):

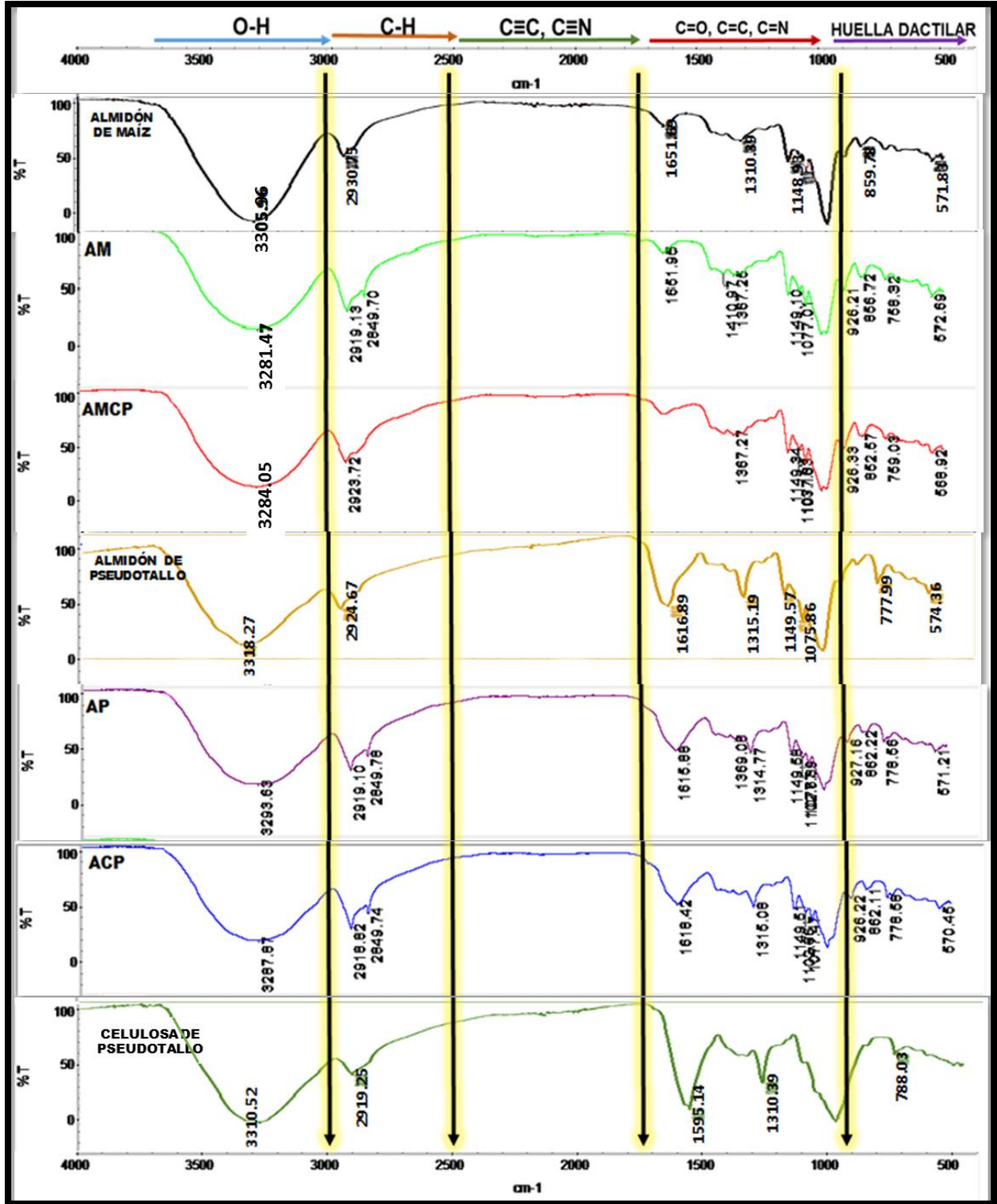


Figura 35. Espectro IR-FT de biopelículas AM, AMCP, AP, ACP, almidón de maíz, almidón y celulosa de pseudotallo.

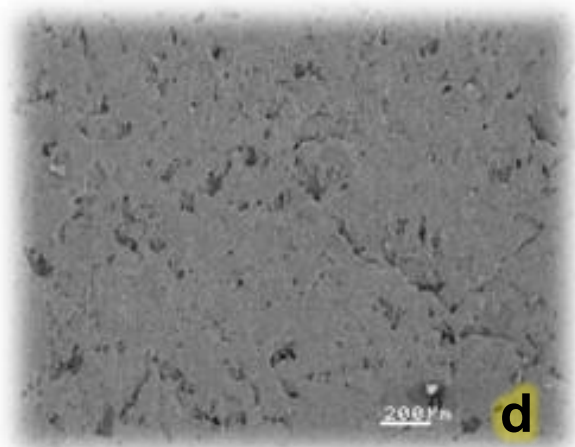
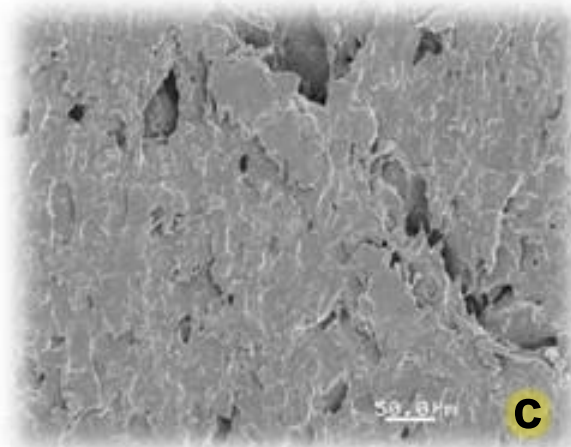
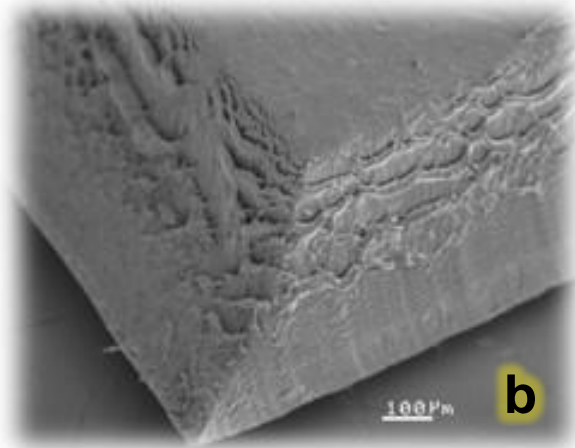
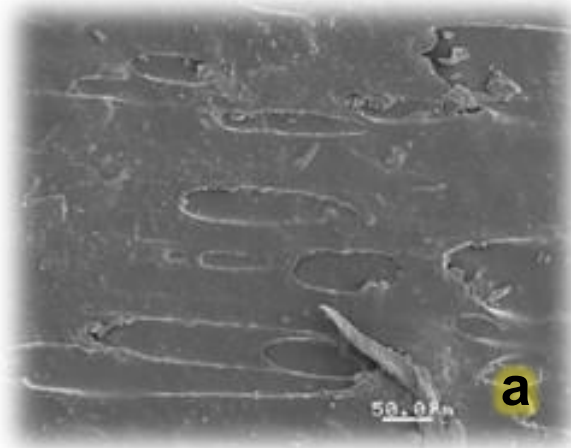
El espectro IR-FT muestra bandas de grupos funcionales característicos presentes en los materiales de estudio, permitiendo identificar estructuras químicas propias de cada material.

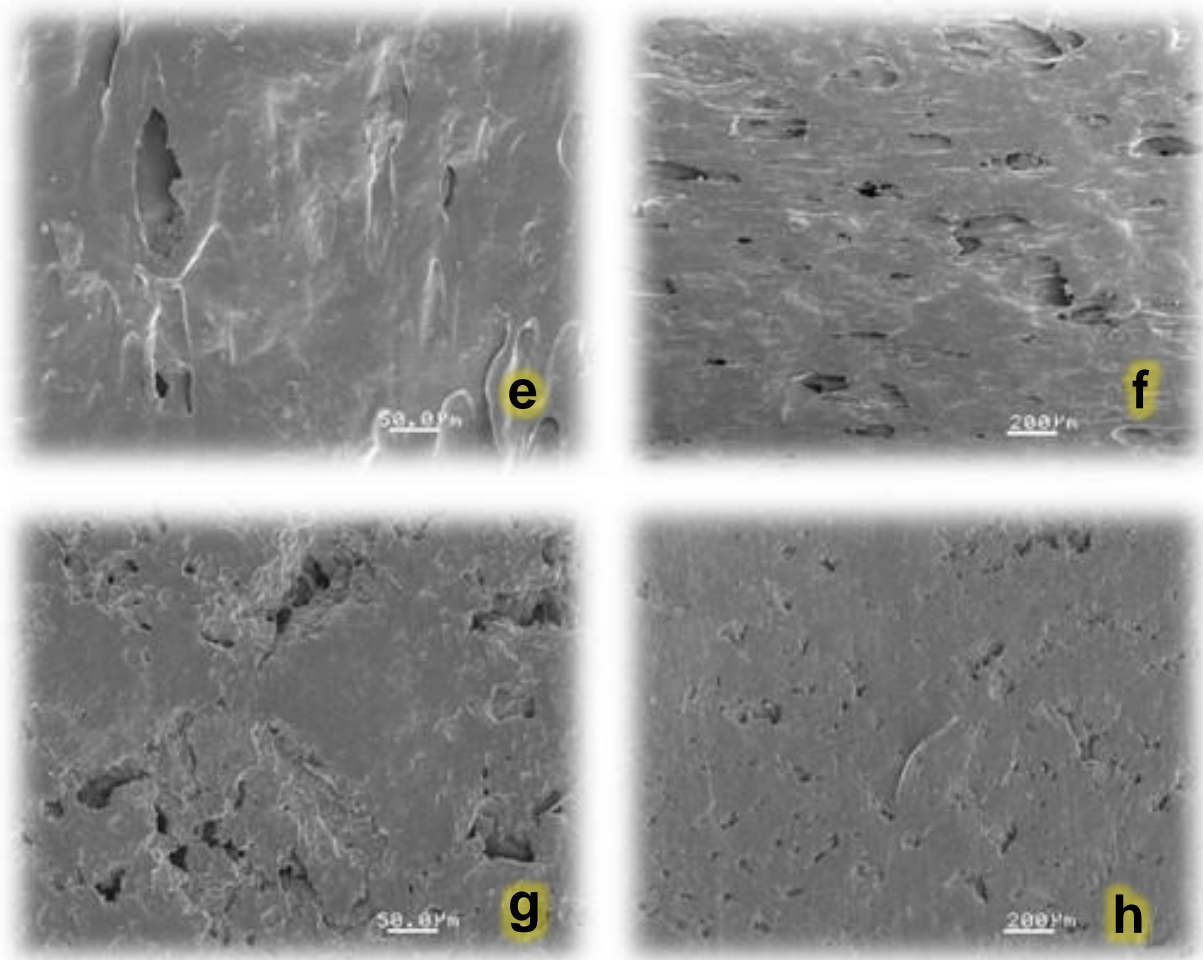
Para las muestras de celulosa y almidón de pseudotallo (*Musa acuminata* AAA y *Musa sapientum* ABB), almidón de maíz en polvo y los tratamientos AM, AMCP, AP y ACP, se observaron bandas amplias de 3600 a 3000 cm^{-1} , encontrando un máximo de absorción entre 3318 y 3281 cm^{-1} correspondiente a los esfuerzos de tensión vibracional asociados a los grupos hidroxilos de cada polímero (Bootklad y Kaewtatip, 2013). Las bandas de absorción entre 2918 y 2930 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de tensión entre C-H, estos enlaces son muy abundantes en compuestos orgánicos, indicando así la presencia de almidón y celulosa. La banda presente entre 1651 y 1595 cm^{-1} se debe a una vibración de flexión de H-O-H del H_2O , indicando que los polímeros son higroscópicos (que absorben de agua). En el caso de la celulosa se presenta un banda más amplia en comparación a los otros espectros, esto debido a que presenta una estructura porosa y la absorción de agua tiende a ser mayor (Mendoza *et al.*, 2011). Para el caso de los tratamientos evaluados (AM, AMCP, AP y ACP) se observa poca absorción de agua por las condiciones óptimas a las que se manejaron, controlando la humedad principalmente. Además se presentan bandas entre 1149 y 1075 cm^{-1} siendo estas características de los polisacáridos por presentar deformación de tensión en enlaces C-O-C de los anillos glucosídicos (Gogoi *et al.*, 2014). Las bandas presentes entre 1000 y 900 cm^{-1} son específicas de grupos aromáticos, observándose una banda con absorción ancha y fuerte, indicando así una mayor vibración de tensión en la muestra de celulosa en polvo, esto debido a la presencia de lignina (García *et al.*, 2011).

Todas las bandas analizadas presentan una absorción en longitudes de onda específicas, este patrón determina la presencia de polisacáridos, siendo almidón y celulosa las moléculas de interés utilizadas en este estudio. Por lo tanto, existe una similitud en los espectros IR-FT, esto debido a que existen interacciones físicas entre el almidón termoplástico y la celulosa (incluyendo el 15% de lignina contenida en las fibras de celulosa). Al analizar estos resultados, indican que el material obtenido (ACP), cumple con características deseables, obteniendo una mezcla homogénea de polímeros.

11.9 Microscopio electrónico de barrido

Las fotografías obtenidas del MEB de las superficies de las muestras evaluadas fueron las siguientes:





Fuente. Laboratorio MEB ECOSUR-Unidad Tapachula.

Figura 36. Fotografías MEB de biopelículas AM, AMCP, AP y ACP. **a,b:** Biopelícula AM. **c,d:** Biopelícula AP. **e,f:** Biopelícula AMCP. **g,h:** Biopelícula ACP.

La Fig. 36 muestra las superficies (sección transversal) de cada una de las biopelículas evaluadas en este estudio, las cuales muestran cada una de sus características morfológicas. Para el caso de la muestra AM, se observa (50 y 100 μm) una superficie delgada y lisa con pequeñas burbujas, mientras que para la muestra AP, se muestra (50 y 200 μm) una superficie rugosa y gruesa, con bordes irregulares y presencia de poros. En el caso de las muestras AMCP y ACP, se observa (50 y 200 μm) un material poroso, esto dado por las fibras de celulosa. A su vez el material fue recubierto por la matriz de almidón así que esto permitió que la interacción con fibras de celulosa

fuera buena mejorando su aspecto y sus propiedades de tracción. Comparando con los resultados obtenidos por Alves *et al.*, (2015), donde analizan películas delgadas hechas a base de almidón de maíz, glicerina y celulosa, mostrando una apariencia homogénea (interacciones uniformes entre los componentes), con estructura compacta y con presencia de poros.

Los poros se observan de igual manera en las muestras AMCP, AP y ACP, mostrando pequeños espacios vacíos dentro del material, esto se debe principalmente al proceso de extrusión y por la presencia de agua, la cual formó pequeñas burbujas de aire. La compactación y el espesor de las muestras, dieron como resultado películas resistentes como se muestra en los resultados para las propiedades mecánicas realizadas (Tabla 12).

11.10 Prueba de biodegradabilidad

En las pruebas de biodegradación de cada una de las biopelículas, se observó que la desintegración total de las muestras fue a los 53 días (Fig. 37), en tierra semi-árida (de Hermosillo, Sonora), manteniendo una humedad del 41%. Mientras que con lombricomposta y composta (de Tapachula, Chiapas), manteniendo una humedad del 73%, el resultado se observó a los 30 días, teniendo la desintegración total de las muestras. La biodegradabilidad de las muestras en lombricomposta y composta fue más rápida que las muestras en la tierra semi-árida, esto debido a que existe mayor cantidad de agentes biológicos, tales como microorganismos, plantas, animales (lombrices), entre otros.

García (2015) evaluó la degradación de un bioplástico generado a partir de almidón de maíz, las condiciones de composta a 27.1 °C y con 82% de humedad relativa, dando como resultado 90 días de total degradación. Siendo estos valores comparables con los de este estudio ya que se obtuvieron valores menores de biodegradabilidad.

Se puede considerar que un material es biodegradable en un medio húmedo cuando se degrada entre 28 y 60 días y en medio seco cuando se degrada en 90 días (Meneses *et al.*, 2007). Estos valores son similares a los obtenidos en este estudio.

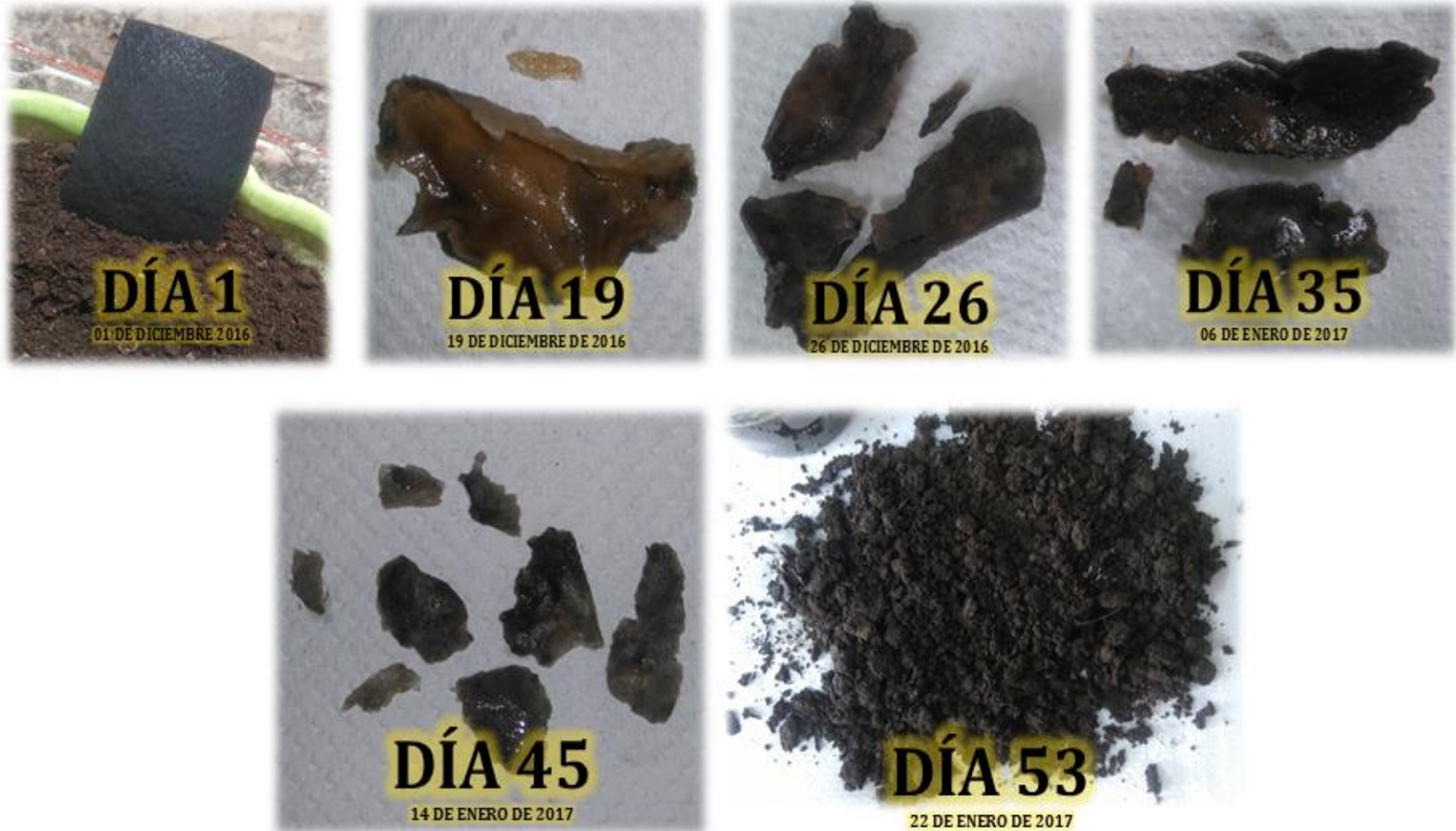


Figura 37. Prueba de biodegradabilidad (30-53 días).

XII. Conclusiones

Los componentes lignocelulósicos de *Musa acuminata* AAA, *M. sapientum* ABB y *M. paradisiaca* AAB fueron caracterizados, encontrándose que *Musa acuminata* AAA tuvo un porcentaje menor de lignina, por este motivo fue seleccionada para la extracción de celulosa y *M. sapientum* AAB tuvo un mayor contenido de almidón. Por lo tanto, fueron seleccionadas para la obtención del bioplástico.

Se preparó el biocompuesto y se estudiaron sus propiedades mecánicas y ópticas, destacando que el material presenta características de un bioplástico (ASTM D3039/D3039M-00), que son la resistencia a la tracción (MPa), el alargamiento a la rotura (%) y su elasticidad (MPa), además de la transmitancia de color y luz (UV-VIS).

Los métodos de caracterización del material fueron la técnica IR-FT y SEM indicando la homogeneización y el estiramiento (flexión) de los grupos funcionales en la composición química. Además, se realizó un ensayo de biodegradabilidad, que resultó la degradación total del material (ASTM D6363/D6363M-08).

Analizando cada uno de los materiales se demuestra que es posible obtener una membrana plástica a partir de polímeros presentes en pseudotallo de *M. acuminata* AAA y *M. sapientum* ABB, los cuales presentaron propiedades físicas comparables con el control elaborado con almidón de maíz; sin embargo se puede observar que la formulación realizada con polímeros de pseudotallo, muestra valores de porcentaje de elongación mayores en comparación con las otras formulaciones, en caso de la resistencia a la tensión y la elasticidad, tiene un valor intermedio comparado con las otras, indicando que se tiene un material rígido y flexible, contribuyendo a tener propiedades mecánicas y ópticas aceptables para un uso extensivo a nivel industrial y con varias aplicaciones.

XIII. Recomendaciones

- Optimizar el proceso para la obtención de enzimas ligninolíticas a partir de *Phanerochaete chrysosporium*.
- Optimizar proceso de deslignificación en pseudotallo de plátano con los extractos enzimáticos obtenidos de *Phanerochaete chrysosporium*.
- Emplear enzimas puras como LiP para el tratamiento de fibras.
- Realizar estudios de humedad, fricción y punto de fusión (propiedades térmicas) del bioplástico obtenido.
- Realizar estudios de migración para confirmar si los envases fabricados con los materiales desarrollados son aptos para estar en contacto con alimentos.
- Utilizar distintos procesos de moldeo para la fabricación de los productos.

XIV. Perspectivas

Todos los materiales usados en este trabajo son potencialmente amigables con el ambiente y con el ser humano, sin causar daño alguno al momento de tener contacto, debido a su composición.

Después de observar cada una de las propiedades mecánicas de cada uno de los materiales obtenidos de la combinación de polímeros (almidón y celulosa) presentes en pseudotallo de plátano (*Musa acuminata* AAA y *Musa sapientum* ABB), es necesario realizar pruebas de toxicidad, físicas, fisicoquímicas, biológicas, entre otras; que comprueben el uso de este bioplástico para darle aplicaciones (Fig. 39).

Las posibles aplicaciones son las siguientes:

Para alimentos: Contenedores, charolas, cubiertos, vasos, platos, popotes.

Por su resistencia: Macetas para invernaderos, carcasas para celular, paragolpes de automóviles, carpas y sombrillas.



Figura 39. Posibles aplicaciones

XV. Literatura citada

- Abdul Khalil, H.P.S., Bhat, A.H., Ireana Yusra, A.F. (2012). Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. *Carbohydrate Polymers* 87(2), 963–979.
- Acuña Pinto, H.M. (2012). Extracción, caracterización y aplicación de almidón de ñame variedad blanco (*Dioscorea trifida*) originario de la region amazonica colombiana para la elaboracion de productos horneados. Tesis de Licenciatura Especialista en Ciencia y Tecnología de alimentos. Universidad Nacional del Colombia.
- Agilent Technologies. (2014). Sistema FTIR de Agilent para control de calidad y análisis estructural. Caracterización de polímeros y materiales. http://www.agilent.com/cs/library/slidepresentation/Public/FTIR%20polimeros%20QACQ_Amparo_ESEMINAR.PDF. Consultado el 14 de Marzo de 2017.
- Aila-Suárez, S., Palma-Rodríguez, H., Rodríguez-Hernández, A., Hernández, J., Bello-Peréz, L., Vargas-Torres, A. (2013). Characterization of films made with chayote tuber and potato starches blending with cellulose nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 98(1), 102–107.
- Alkarkhi, A.F.M., Ramli, S.B., Shin, Y.,Y., Mat, E. A. (2011). Comparing physicochemical properties of banana pulp and peel flours prepared from green and ripe fruits. *Food Chemistry*, 129(2), 312–318.
- Almeida, A., Ruiz, J., López, N., Pettinari, M. (2004). Bioplásticos: una alternativa ecológica. *Química Viva*, 3(3), 122-133.
- Alves, J.S. Reis, K. C., Menezes E. G. T. (2015). Effect of cellulose nanocrystals and gelatin in corn starch plasticized films. *Carbohydrate Polymers*, 115, 215–222.
- Arboleda E., Carolina., Segura S. Freimar., Castrillon O., Carla C., Giraldo A., Newar Andrés., Mejía G., A.I. (2003). Obtención de la enzima ligninoperoxidasa por fermentación en estado sólido del *Phanerochaete chrysosporium* sobre capacho y tusa de maíz. *Vitae*, 10(121-4004), 25–33.

- ASTM D3039/D3039M-00. (2002). Standard test method for tensile properties of polymer matrix composite materials.
- ASTM F392/F392M-11. (2016). Standard practice for conditioning flexible barrier materials for flex durability.
- Averous, L., Boquillon, N. (2004). Biocomposites based on plasticized starch : thermal and mechanical behaviours., *Carbohydrate Polymers*, 56, 111–122.
- Barragán, M.I., López, J. M., Cadavid, L. F., Lucas A. J. C. (2002). Manual de tecnologías en la cadena agroindustrial de la yuca Editorial SENA, México.
- Benavides M., T.R. (2014). Síntesis y caracterización de membranas de acetato de celulosa, obtenidas a partir de desechos agroindustriales. Tesis de Licenciatura en Ciencias Químicas. Universidad de El Salvador.
- Blanco G., E.A. (2012). Identificación y caracterización de la esterasa de ácido ferúlico de *Bacillus flexus* NJY2 aislado de nejayote de maíz. Tesis de Doctorado en Ciencias con Orientación en Microbiología Industrial. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Bolio-López, G.I., Valadez-González, A., Veleza, L., Andreeva, A. (2011). Whiskers de celulosa a partir de residuos agroindustriales de banano: Obtención y caracterización. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 10(2), 291–299.
- Bootklad, M., Kaewtatip, K. (2013). Biodegradation of thermoplastic starch / eggshell powder composites. *Carbohydrate Polymers*, 97(2), 315–320.
- Borschiver, S., Almeida, L.F.M., Roitman, T. (2008). Monitoramento tecnológico e mercadológico de biopolímeros. *Polímeros*, 18(3), 256–261.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding., 254, pp.248–254.
- Call, H.P., Mücke, I. (1997). History, overview and applications of mediated lignolytic systems, especially laccase-mediator-systems (Lignozym®-process). *Journal of Biotechnology*, 53(2-3), 163–202.

- Canché-Escamilla, G. (2005). Obtención de celulosa a partir de los desechos agrícolas del banano. *Información Tecnológica*, 16(1), 83-88.
- Carranza S. D., Solanilla D. J. F., Alexander M. D. (2015). Pretreatment of residues from plantain (*Musa paradisiaca* (L.) AAB) and arracacha (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) for obtaining fermentable sugars. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología*, 6(1), 019-035.
- Carchi Maurat, D.E. (2014). Aprovechamiento de los residuos agrícolas provenientes del cultivo de banano para obtener nanocelulosa. Tesis de Licenciatura Especialista en Ingeniería Química. Universidad de Cuenca, Ecuador.
- Charley, H. (1998). *Tecnología de alimentos: procesos químicos y físicos en la preparación de alimentos*, Editorial Limusa, México.
- Cobana, M., Antezana, R. (2007). Proceso de extracción de almidón de yuca por vía seca. *Revista Boliviana de Química*, 24(1), 77–83.
- Cordeiro, N., Belgacem, M. N., Torres, I. C., Moura, J. C. (2004). Chemical composition and pulping of banana pseudo-stems. *Industrial Crops and Products*, 19(2), 147–154.
- Curvelo, A.A.S., Carvalho, A.J.F., Agnelli, J.A.M. (2001). Thermoplastic starch ± cellulosic composites : preliminary results. *Carbohydrate Polymers*, 45, 183-188.
- Duque Osorio, L.J. (2010). *Cualificación por infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) del polietileno producido en ECOPEPETROL, S.A. Tesis de Licenciatura Especialista en Ingeniería Industrial*. Universidad de Pereira. Colombia.
- Estrada, M. M. (2010). Extracción y caracterización mecánica de las fibras de bambú (*Guadua angustifolia*) para su uso potencial como esfuerzo de material compuesto. Tesis de Maestría en Ingeniería. Universidad de los Andes. Colombia.
- Farrell, R.L. Kirk, K., Croan S., Tien M. (2016). Production of multiple ligninases by *Phanerochaete chrysosporium*: Effect of selected growth conditions and use of a mutant strain. *Enzyme and Microbial Technology*, 8, 27-32.

- Fernández, J.A., Henao, L. M., Pedroza-Rodríguez, A. M., Quevedo-Hidalgo, B. (2009). Immobilising lignolytic fungus for removing reactive black 5 dye. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11, 1–14.
- Flores-Gorosquera, E., García-Suárez, F., Flores-Huicochea, E. (2004). Rendimiento del proceso de extracción de almidón a partir de frutos de plátano (*Musa paradisiaca*). Estudio en planta piloto. *Acta Científica Venezolana*, 55, 86–90.
- García Q., A. V. (2015). Obtención de un polímero biodegradable a partir de almidón de maíz. 1 ed. San Salvador, El Salvador: *ITCA Editores*.
- García-Tejeda, Y. V., Bello-Pérez, L. A., Romero-Bastida, C. A., Solorza-Feria, J., Zamudio-Flores, P. B. (2011). Oxidation of native banana starch for its potential use in biodegradable packaging materials manufacturing: physical, chemical, thermal, and morphological characterization. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. Universidad del País Vasco, 12(3), 125-135.
- García Torres, Angélica María., Torres Sáe, R.G. (2003). Producción de enzimas lignolíticas por *Basidiomycetes* mediante la técnica de fermentación en sustrato sólido. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 1(0123-3475), 56–64.
- Gogoi, K., Mausoom, M., Pradeep, S., Sedar, P., Kumar, B., Kumar, T. (2014). Valorization and miscellaneous prospects of waste *Musa balbisiana* Colla Pseudostem. *Journal of Waste Management*, 1-8.
- González, P., Medina, C., Fama, L., Goyanes, S. (2016). Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch – glycerol with citric acid as crosslinking agent, *Carbohydrate Polymers*, 138, 66–74.
- Guarnizo F. A., Nel, M.P., Lucía, P.M. (2012). Azúcares del pseudotallo de plátano: Una opción para la obtención de alcohol de segunda generación. *Revista Bistua*, 10(1), 39–51.
- Guevara L. A., Marulanda M. A. F. (2012). Evaluación de la factibilidad de producción de etanol a partir de los desechos de musáceas (plátano y banano) comerciales. Tesis

de Licenciatura en Ingeniería Agroindustrial. Universidad de San Buenaventura. Santiago de Cali, Colombia.

Guimarães, J.L., Frollini, E., Da Silva C., Wypych, F., Satyanarayana, K. (2009). Characterization of banana , sugarcane bagasse and sponge gourd fibers of Brazil. *Industrial Crops and Products*, 30, 407–415.

Hernández Martínez, H. (2013). Utilización de lignina de olote de maíz como componente en películas a base de almidón. Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Química. Universidad Iberoamericana, México.

Hietala, M., Mathew, A.P., Oksman, K. (2013). Bionanocomposites of thermoplastic starch and cellulose nanofibers manufactured using twin-screw extrusion. *European Polymer Journal*, 49, 950–956.

Jiménez Coello, C. (2013). Efecto de la temperatura en la difusión de ácido clorogénico de una película de ácido poliláctico a simulantes de alimentos grasos. Tesis de Licenciatura Ingeniería Bioquímica con Especialidad en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

Kampangkaew, S., Thongpin, C., Santawtee, O. (2014). The synthesis of cellulose nanofibers from *Sesbania javanica* for filler in thermoplastic starch. *Energy Procedia*, 56, 318–325.

Kersten, P., Cullen, D. (2007). Extracellular oxidative systems of the lignin-degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Fungal Genet Biological*, 44, 77–87.

Le, A., Jourdes, M., Teissedre, P. (2015). Polysaccharides and lignin from oak wood used in cooperage: Composition, interest, assays: A review. *Carbohydrate Research*, 417, pp.94–102.

Makhtar, N.S.M., Md, R. M. F., Mouh R. N. B., Ku H. K. H. (2013). *Tacca Leontopetaloides* starch: New sources starch for biodegradable plastic. *International Tribology Conference Malaysia*, 68, 385–391.

Malathi, A.N. (2014). Recent trends of biodegradable polymer: biodegradable films for

food packaging and application of nanotechnology in biodegradable food packaging. *Current trends in Technology and Science*, 3(2), 73–79.

Manjarrez, N. L., Ballinas C., Solis C. O., Fierro, V., Ibarra, R., González, G. (2011). Biopolymers-based nanocomposites: Membranes from propionated lignin and cellulose for water purification. *Carbohydrate Polymers*, 86, 732–741.

Martínez, T. Angel., Ruiz-Dueñas, J. Francisco., Martínez, María J., Del Río, Jose C., Gutiérrez, A. (2009). Enzymatic delignification of plant cell wall: from nature to mill. *Current opinion in biotechnology*, 20(20), 348–357.

Meneses J., Corrales C. M., Valencia M. (2007). Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. *Revista EIA*, 8, 57-67.

Melian, S., D.E. (2010). Ensayo comparativo de dos metodologías de extracción de almidón de papa usando muestras de diez variedades nativas de chiloé y dos variedades. Tesis de Licenciatura en Ciencia de los Alimentos. Universidad Austral de Chile. Chile.

Méndez, De la Cruz, A.E. (2010). Extracción de almidón del banano verde (*Musa Sapientum* variedad Gran Enano) producto de desecho de las industrias bananeras y evaluación de su función como excipiente en la formulación de comprimidos. Tesis de Licenciatura en Ciencias químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.

Mendoza Quiroga, R., Velilla Díaz, W. (2011). Methodology for the thermo-mechanical characterization of biodegradable plastic films. *Prospectiva*, 9(1), 46–51.

Miranda, C.S., Ferreira, Marina., Magalheaes, J, Santos., Wilton., Oliveira, J., Silva, J., José. Nadia. (2015). Mechanical , thermal and barrier properties of starch-based films plasticized with glycerol and lignin and reinforced with cellulose nanocrystals. *Materials Today: Proceedings*, 2(1), 63–69.

Morán, J. (2008). Extracción de celulosa y obtención de nanocelulosa a partir de fibra sisal - caracterización. *Asociación Argentina de Materiales*. 1, 16-17.

- Monsalve G. J., Medina V. I., Ruiz, A. A. (2006). Ethanol production of banana shell and cassava starch, *DYNA*, 73, 21–27.
- Mostafa, N., Farag, A., Abo, H. (2015). Production of biodegradable plastic from agricultural wastes. *Arabian Journal of Chemistry*, 4–11.
- Moya Lobo, R. (2011). Caracterización de la lacasa de *Streptomyces cyaneus* CECT 3335 y aproximación al estudio de su potencial oxidativo y función biológica. Tesis Doctoral en Microbiología y Parasitología. Universidad de Alcalá. España.
- Nur Hanani, Z.A., Jasny, N.R., Abdul Halim, N. (2013). Potencial of green banana as biodegradable packaging films. *2nd International Conference on Environment, Energy and Biotechnology*, 51(26), 139–142.
- Paredes Medina, D., Álvarez Núñez, M., Silva Ordoñez, M. (2010). Obtención de enzimas celulasas por fermentación sólida de hongos para ser utilizadas en el proceso de obtención de bioalcohol de residuos del cultivo de banano. *Revista Tecnológica ESPOL-RTE*, 23, 81–88.
- Paliwal, Rashmi., Giri, Krishna., Rai, J. (2015). Microbial ligninolysis: Avenue for natural handbook of research on uncovering new methods for ecosystem management through bioremediation. *ResearchGate*. Editorial IGI global, 638.
- Paz González, Y.T. (2011). Evaluación de las pulpas obtenidas a partir del pseudotallo de plátano para la elaboración de papel. Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales. Universidad de Zulia. Venezuela.
- Plastivida, 2013. Boletín Técnico Informativo N° 21 Degradación de los Materiales Plásticos. <http://www.emmafioentino.com.ar/PLASTIVIDA/BTI-21.pdf>
- Reséndiz Villagómez, Y. (2015). Extracción y caracterización fisicoquímica del pigmento colorido presente en la madera del guamúchil (*Pithecellobium dulce*). Tesis de Maestría en Ciencias en producción agrícola sustentable. Instituto Politécnico Nacional. México.
- Rodríguez-Castellanos, W., Martínez-Bustos, F., Rodrigue, D., Trujillo-Barragan, M.

- (2015). Extrusion blow molding of a starch-gelatin polymer matrix reinforced with cellulose. *European Polymer Journal*, 73, 335–343
- Rojas Cortés, M.G., Vallejo, B.M., Perilla Perilla, J.E. (2008). Biopolymers as materials for developing products in pharmaceutical applications and biomedical uses. *Revista Ingeniería e Investigación*, 28(1), 57–71.
- Ruiz D., Francisco J., (1998). Caracterización molecular de un nuevo tipo de peroxidasa ligninolítica. Tesis Doctoral en Biología. Universidad Complutense de Madrid, España.
- Salmoral, E.M., Gonzalez, M.E., Mariscal, M.P. (2000). Biodegradable plastic made from bean products. *Industrial Crops and Products*, 11(2-3), 217–225.
- Sakhawy, M., Hassa, M. (2007). Physycal and mechanical properties of microcrystalline cellulose prepared from agricultural residues. *Carbohydrate Polymers*, 67(1), 1-10.
- SIAP (2016). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. *Atlas agroalimentarios 2016*. México.
- Siracusa, Valentina, Rocculi, Pietro, Romani, S., Dalla Rosa, M. (2008). Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19(12), 634–643.
- Snell, K.D., Singh, V., Brumbley, S.M. (2014). Production of novel biopolymers in plants: recent technological advances and future prospects. *Current opinion in biotechnology*, 32(1), 68–75.
- Sudharsan, K., Chandra, C., Azhagu, P., Archana, G., Sabina, K., Sivarajan, M., Sukumar, M. (2015). Production and characterization of cellulose reinforced starch (CRT) films. *Biological Macromolecules*, 83, 11-37.
- TAPPI 211 and 222 OM-02 standards (2006). Acid-insoluble lignin in wood and pulp.
- Teixeira, E.D.M., Pasquini, D., Curvelo, A., Corradini, E., Belgacem, M., Dufresne, A. (2009). Cassava bagasse cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava

- starch. *Carbohydrate Polymers*, 78(3), 422–431.
- Tharanathan, R. (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science & Technology*, 14(3), 71–78.
- Treviño J., Hernandez M. T., C.R. (2011). Estudio del valor nutritivo de las hojas y tallo del maíz híbrido de tallo azucarado E-ID. *Instituto de Alimentación y Productividad Animal (C.S.I.C.)*, 286–292.
- Trinetta, V., Trinetta, V., State, K. (2016). Biodegradable Packaging, Review. Kansas State University. Elsevier. USA.
- Vega-Baudrit, José., Delgado-Montero, Karina., Sibaja Ballester, María., Alvarado Aguilar, P. (2008). Materiales poliméricos compuestos obtenidos a partir de los residuos generados por la agroindustria de la caña de azúcar. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 9(4), 389–406.
- Villa, Yadira., Espín, N. (2012). Determinación de la cinética de crecimiento del hongo *Phanerochete crhryso sporium* en residuos lignocelulósicos y determinación de la actividad ligninoperoxidásica. *Revista politécnica*, 70–74.
- Villada, H. S., Acosta, H. A., Velasco, R. J. (2007). Biodegradables biopolymers natural used in biodegradable. *Polymer*, 12(4), 5–13.
- Villada, H. S., Acosta, H. A., Velasco, R. J. (2008). Investigación de almidones termoplásticos, precursores de productos biodegradables. *Informacion Tecnologica*, 19(2), 3–14.
- Viloria, P., Marfisi, Shirley., Oliveros, P., Rojas, B., Peña, G. (2014). Obtención de celulosa microcristalina a partir de desechos agrícolas del cambur (*Musa sapientum*). Síntesis de celulosa microcristalina. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 15(6), 286–300.
- Wong, D.W.S. (2009). Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 157, 174-209.

Yucang Z. W., Li J., Zhou Y., Li R., Zhou W. (2015). Characterization of cellulose from banana pseudo-stem by heterogeneous liquefaction. *Carbohydrate polymers*, 132, 513-519.

XVI. Anexos

16.1 Tablas IR-FT

Tipo de Enlace		Tipo de vibración	Frecuencia (cm ⁻¹)	Intensidad	
C-H	Alcanos	Tensión	3000-2850	Alta	
	Csp ³ -H (Metilo)	Flexión	1450-1375	Media	
	Balaceo de cadena de al menos 4 grupos CH ₂	-C-(CH ₂) _n -C con n mayor o igual a 4	720-725	Depende de la cantidad de grupos CH ₂	
	Balaceo de CH ₃	C-CH ₃	1370-1380	Baja	
	Deformación de enlace C-H en iso-grupos	-CH(CH ₃) ₂	1388 - 1380	Medianamente anchas, de aproximadamente igual intensidad	
	Csp ² -H (Metileno)	Flexión	1465	Media	
	Alquenos	Tensión	3100-3000	Media	
	Alquenos	Fuera del plano de Flexión	1000-650	Alta	
	Aromáticos	Tensión	3150-3050	Alta	
	Aromáticos	Fuera del plano de Flexión	900-690	Alta	
	Mono Sustituidos	Estiramiento	Csp ² -H	3050-3070	Media
		Balaceo de CH ₃	C-CH ₃	1370-1380	Media
		Deformación del anillo	Csp ² -H	740 y 715	Débil
	Di Sustituidos	ORTO	Csp ² -H	740	Fuerte
META		Csp ² -H	740-690	Fuerte	
PARA		Csp ² -H	800	Media	
Alquino	Tensión	3300	Alta		

	Aldehídos	Sp ² -H	Estiramiento	2900-2800 2800-2700	Media-Débil	
C-C	Alquenos			No interpretable		
C=C	Deformación CIS			1640-1670	Débil	
	Deformación TRANS			892-870	Fuerte	
	Alqueno			1680-1600	Media-Débil	
	Deformación C=C terminal		CH ₂ =C	1000 - 909	Intensas	
	Aromáticos			1600 y 1475	Media-Débil	
C≡C	Alquino			2250-2100	Media a Débil	
	Csp-H		Deformación	600-700	Media	
	C-C triple enlace terminal		Estiramiento	2100-2140	Fuerte	
	C-C triple enlace		Estiramiento	2220	Media	
C=O	Aldehído			1740-1720	Fuerte	
	Cetona			1725-1705	Fuerte	
	Ácidos carboxílicos			Estiramiento	1725-1700	Fuerte
		α, β no saturados			1715-1690	Fuerte
		Arílicos			1700-1660	Fuerte
		O-H			2700-3500	Fuerte
	Éster			Estiramiento	1750-1730	Fuerte
		O-H		Estiramiento	2400 hasta 3400	Media a Fuerte
		α, β no saturados		Estiramiento	1730-1717	Media
		Arílicos		Estiramiento	1730-1717	Media
						1670-1640
	Amida				1690	Fuerte
N-H Primaria				1700-1670	Fuerte	
N-H Secundaria				3500 y 3400	Media	
N-H Dos bandas			Estiramiento	3320-3140	Media	
N-H Una Banda				1620-1590	Fuerte	
	N-H Deformación				Fuerte	

				1550-1510	Fuerte
	Anhídridos			1810 y 1760	Fuerte
	Halogenuros de Ácido	Cloruro	Estiramiento	1806	Fuerte
		Fluoruro		1850	Fuerte
		Bromuro		1810	Fuerte
		Yoduro		1795	Fuerte
C=O	Cetonas		Estiramiento	1725-1705	Fuerte
	α , β no saturados		Estiramiento	1685-1665	Fuerte
	Aromáticos		Estiramiento	1700-1680	Fuerte
C-C	Alcoholes, éteres, ésteres ácidos carboxílicos, anhídridos			1300-1000	Fuerte
O-H	Alcoholes, fenoles Libre			3650-3600	Media
	Alcoholes, enlace H			3500-3200	Media
	Ácidos carboxílicos			3400-2400	Media
	O-H libre			3620-3640	Fuerte
	O-H asociado			3250-3450	Fuerte
N-H	Mono sustituidas	Doblete	Estiramiento	3500-3400	Débil
			Flexión	1580-1650	Media
			Deformación	666-909	Media
	Disustituidas	Singulete	Estiramiento	3310-3350	Muy débil
			Deformación	666-909	Media
C-N	Aminas			1350-1000	Media-fuerte
C=C	Iminas y oximas			1690-1640	Débil-fuerte
C \equiv N	Nitrilos			2260-2240	Media
X=C=Y	Alenos, quetanos, isocianatos, isotiocianatos			2270-1950	Media-fuerte
N=O	Nitro (R-NO ₂)			1550 y 1350	Fuerte
S-H	Mercaptanos			2550	Débil
S=O	Sulfóxidos			1050	Fuerte
	Sulfones, cloruros de sulfónidos			1375-1300 y	Fuerte

16.2 Pruebas preliminares para la obtención del bioplástico

Combinación de polímeros	Almidón (Maíz)	Glicerina	Agua	Celulosa (<i>Musa acuminata</i> AAA)	Peletizadora			Extrusor
					Condiciones del equipo			
					T °C / rpm			T °C / rpm
Prueba 1	5 g	1 ml	50 ml	--	100 *1	120 *2	120 *3	--
					60			
Prueba 2	70 g	20 ml	10 ml	--	100 *1	120 *2	120 *3	--
					60			
Prueba 3	210 g	60 ml	30 ml	--	100 *1	120 *2	120 *3	--
					60			
Prueba 4	178 g	60 ml	30 ml	31.5 g	100 *1	120 *2	120 *3	--
					60			

Prueba 5	199.5 g	60 ml	30 ml	10.5 g	100 *1	120 *2	120 *3				
					60			--			
Prueba 6	310 g	88 ml	44 ml	--	80 *1	105 *2	105 *3	80 *1	105 *2	115 *3	115 *4
					60			60			
Prueba 7	210 g	60 ml	30 ml	--	85 *1	105 *2	105 *3	80 *1	105 *2	115 *3	115 *4
					60			60			
Prueba 8	195 g	60 ml	30 ml	15 g	85 *1	105 *2	115 *3	80 *1	105 *2	115 *3	115 *4
					60			60			

Peletizadora: *1. Temperatura inicial; *2. Temperatura del tornillo; *3. Temperatura final. **Extrusor:** *1. Temperatura inicial; *2. Temperatura tornillo, *3. Temperatura dado plano, *4. Temperatura salida.

(ENVIADO PARA SU PUBLICACIÓN)

4 **Use of cellulose and starch from pseudostem of *Musa acuminata* AAA and *Musa sapientum***
5 **ABB to bioplastics elaboration**

6 C. Jiménez Coello^a, M. A. Calixto Romo^{a*}, G. K. Guillén Navarro^a y H. Soto Valdez^b

7 ^a Biotechnology group, *The College of the South Frontier, ECOSUR. Carretera Antiguo*
8 *Aeropuerto Km. 2.5, C.P. 30700. Tapachula, Chiapas, México.*

9 ^b *Research Center for Food and Development A. C., CIAD. Carretera a La Victoria Km. 0.6, C.*
10 *P. 83304, Hermosillo, Sonora, México.*

11

12 *Corresponding author.

13 E-mail address: mcaxlxto@ecosur.mx, angeles1011@hotmail.com, Phone: 52 (962) 628 9800 Ext.
14 5449.

15

16 **Abstract:**

17

18 This work reports, for the first time, a 100% biodegradable bioplastic from banana polymers.
19 Cellulose and starch were both extracted from residues of pseudostems *Musa acuminata* AAA and
20 *Musa sapientum* ABB, respectively. In this study, two environmentally friendly methods were
21 applied, wet extraction and elimination of lignin by enzymes, opposite to the usual methods of this
22 kind of polymers (chemical methods). Bioplastic was obtained by extrusion method at variable
23 starch and cellulose concentration, measuring mechanical and optical properties of biofilm as
24 strain, thickness, elasticity, color and opacity, FT-IR and SEM. The results of showed that the
25 bioplastic has acceptable characteristics (according to D3039/D3039M-00), which are: tensile
26 strength, high elongation to break which indicates that the material has the property of returning to
27 its original shape; color black was assigned according to the plans *Lab*. Also, a biodegradability
28 study was carried out on compost, vermicompost and clay soil (ASTM D6363/D6363-08).

29

30 *Keywords:* Bioplastic, banana pseudostem, polymers, *Phanerochaete chrysosporium*.

31 **1. Introduction**

32 One of the global problems is the use of petroleum-based plastics and fossil fuels because they are
33 unsustainable products causing an adverse environmental impact with irreversible consequences
34 because they contain solids of low degradability (Tharanathan, 2003). Application of new
35 technologies to avoid the conventional use of plastics derived from fossil fuels, have taken great
36 importance presenting the choice to obtain these products, from natural polymers like: starch,
37 cellulose, glycogen, chitin, lignin, among others, which are innovative products that protect the
38 environment because they are polymers from natural sources.

39 Chiapas state is one of the largest important banana producers (*Musa acuminata* AAA, *M.*
40 *sapientum* ABB and *M. paradisiaca* AAB), according to reports from the Agri-food and Fisheries
41 Information Service (SIAP, 2016). This state had a planted area of 26.6 ha and a production of

42 708,701 tons of bananas (fruit), 12% of the total plant is consumable, taking into account that a
43 banana plant also includes fruit, rachis, pseudostem, leaves and flower (crop waste). The
44 pseudostem is the most representative waste in banana crop and this material is underused as
45 organic fertilizer. Banana pseudostem is considered a soft wood and contain mainly of cellulose
46 (40-50%), hemicellulose (25-35%), lignin (25-35%) and starch (1-5%) (Carchi, 2014).

47 Proper management of natural resources has become important in recent years, as well as the use
48 of agricultural wastes, which could potentially be utilized for the manufacture of new products,
49 representing a viable alternative for a social and environmental benefit. Banana cultivation
50 produced organic wastes (including polymers such as cellulose and starch) which can be used to
51 obtain high-value products. Only the fruit is harvested from banana crop and used as human food,
52 remaining as residue, floral stalk and pseudostem, which have a high content of cellulose (Carchi,
53 2014). Agroindustrial residues of the banana (*M. cavendish* AAB) crop have been used for the
54 extraction of cellulose fibers by chemical treatment obtaining nanobiocomposites (Bolio, Valadez,
55 Veleva & Andreeva, 2010).

56 Currently, the extraction of natural polymers is carried out by chemical or physical methods which
57 generate highly polluting waste causing damage to the environment. In addition, to requiring high
58 temperatures (above 70 °C) consuming larger amounts of energy, making the biopolymer processes
59 more expensive. For this reasons, enzymatic and wet methods are preferred because they are carried
60 out under less extreme conditions and do not generate polluting chemical wastes. Currently, there
61 are no bioplastics from the combination of starch and cellulose from banana pseudostem. However,
62 there is a report of Aila et al., (2013), who generated a bioplastic based on chayote starch (a pale
63 green squash) and cotton cellulose fibers, which evaluated their mechanical properties presenting
64 tensile strength values of 0.5 to 1.1 MPa. Also, Nur, Jasny & Abdul, (2013) prepared biofilms
65 based on starch and cellulose from banana meal using chemical extraction, evaluating their optical
66 properties and their applications.

67 The present study reports for the first time the generation of bioplastic using starch and cellulose
68 of banana pseudostem (*M. acuminata* AAA – *M. sapientum* ABB) which were obtained by wet and
69 enzymatic extraction.

70 2. Materials and Methods

71 2.1 Raw material

72 Pseudostems used in this work were from *M. acuminata* AAA, *M. paradisiaca* AAB and *M.*
73 *sapientum* ABB (80 kg of each one) from the banana region of Soconusco, Chiapas (from the
74 municipalities of Mazatán and Tuxtla Chico). The material was cut to obtain fragments among 5
75 to 10 cm. The starch extraction was performed with green pseudostem (*M. sapientum* ABB)
76 (freshly cut), and the cellulose was performed after drying the pseudostem (*M. acuminata* AAA)
77 at 35 °C for six days.

78 Sample 1: "*M. acuminata* AAA" (Grand Nain). Location: Agropecuaria "El Edén", S. A. De C. V.,
79 Rancho El Carmen, Colimán, Agrícola. Marte R. Gómez, Mazatán, Chiapas (14°54'44'N
80 92°24'58'W 414 m).

81 Sample 2: "*M. paradisiaca* AAB" (Macho). Location: Km. 6, Tuxtla Chico, Chiapas (14°54'21'N
82 92°11'20'W 6 Km).

83 Sample 3. "*M. sapientum* ABB" (Manzanita). Location: Km. 6, Tuxtla Chico, Chiapas
84 (14°54'21''N 92°11'20''W 6 Km).

85 2.1.1 Determination of lignocellulosic and starch components

86 Samples of three banana species (*M. acuminata* AAA, *M. paradisiaca* AAB and *M. sapientum*
87 ABB) were collected to quantify the content of cellulose and starch for their use in the production
88 of bioplastic. The pseudostem was divided into three parts (high, medium and low), and the
89 percentage of lignin, holocellulose, hemicellulose, cellulose and starch of each sample was
90 quantified, based on TAPPI 211 and 222 OM-02 (2006) standards.

91 2.2 Obtaining the enzymatic extract and assays

92 *Phanerochaete chrysosporium* (donated by M.S. Jesús Alejandro Zamora Briseño) was inoculated
93 by plaque stinging on PDA medium at 28 °C for ten days. Subsequently, were inoculated flasks
94 with 5 g wheat bran (1000 µm particle size) at 70% moisture, using 9.17 ml of impregnation
95 medium (0.5% urea, 2 g/l K₂HPO₄ and 0.3 g/l MgSO₄·7H₂O) previously sterilized at 120 °C for 15
96 min. Cultivation of *P. chrysosporium* in wheat bran was carried out for ten days at 28 °C. The
97 enzymatic extraction was performed using 30 ml of 0.1 M KH₂PO₄ buffer, pH 4.5 at room
98 temperature. The amount of protein was determined by the Bradford method at 595 nm (Bradford,
99 1976) using a spectrophotometer (PharmaSpec UV-1700, SHIMADZU, Japón). The enzymatic
100 activity of the extracts was determined during a period of 10 days. The lignin peroxidase activity
101 was determined by oxidation of veratryl alcohol to veratryl aldehyde in 40 mM succinate buffer,
102 pH 4, 40 mM veratryl alcohol, enzymatic extract and 0.03% hydrogen peroxide at 310 nm. A total
103 of 10 samples was used. One unit of lignin peroxidases activity was defined as the amount of
104 enzyme required for oxidation 1 µmol of veratryl alcohol/min (Farrell, Kirk, Croan & Tien, 2016).

105

106 2.3 Obtaining polymers of banana pseudostem

107 The starch was extracted from *M. sapientum* ABB by the wet method described by González,
108 Medina, Fama & Goyanes, (2016). Cellulose from *M. acuminata* AAA was performed by the
109 method described by Benavides (2014).

110 2.4 Degradation of lignin: Enzymatic method

111 *P. chrysosporium* was cultivated on PDA medium at 28 °C for 10 days. Five (1 cm²) squares were
112 taken and inoculated into flasks with 374 g of wheat bran (particle size 1000 µm) at 70% humidity,
113 685.91 ml of impregnation medium (0.5% urea, 2 g/l K₂HPO₄ and 0.3 g/l MgSO₄·7H₂O) previously
114 homogenized and autoclaved at 120 °C for 15 min. The culture was maintained at 28 °C for five
115 days and enzymatic extraction was performed using KH₂PO₄ 0.1 M, pH 4.5 (2.2 l). The enzymatic
116 extract obtained was used to degrade lignin from *M. acuminata* AAA, leaving the extract for 48 h
117 in the pseudostem (1000 µm); the material was then sterilized for 15 min at 120 °C to inactivate
118 enzymatic activity. Lignin content was measured by TAPPI 211 and 222 OM-02 (2002) standards
119 and stored in bags at room temperature until its use.

120 2.5 Obtaining bioplastic

121 Cellulose and starch were homogenized manually and placed into the LME mini-extruder using a
122 simple screw with a dice with filaments output (Part 1) and coupled to a flat dice (Part 2), with two

123 heating zones (mini extruder). The liquid filament was passed through a 2 Å Beutelspacher cutter
124 to obtain the cylindrical plastic pellets, optimum processing conditions are resumed in Table 1.

Table 1. Optimum conditions for obtaining bioplastic

Combination of polymers	Starch (ⁱ Corn/ ⁱⁱ <i>M. sapientum</i> ABB) (g)	Glycerin (ml)	H ₂ O (ml)	Cellulose (<i>M. acuminata</i> AAA) (g)	Pelletizer T °C / rpm			Mini-extruder T °C / rpm	
					90 ^{*1}	100 ^{*2}	115 ^{*3}	190 ^{*1}	200 ^{*2}
CS ^a	ⁱ 20	5.71	2.85	--	90 ^{*1}	100 ^{*2}	115 ^{*3}	190 ^{*1}	200 ^{*2}
					60			70	
CSPBS ^b	ⁱ 74.28	22.84	11.42	5.7	90 ^{*1}	100 ^{*2}	115 ^{*3}	190 ^{*1}	200 ^{*2}
					60			70	
PBS ^c	ⁱⁱ 20	5.71	2.85	--	90 ^{*1}	100 ^{*2}	115 ^{*3}	190 ^{*1}	200 ^{*2}
					60			70	
PBSC ^d	ⁱⁱ 111.42	34.26	17.13	8.55	90 ^{*1}	100 ^{*2}	115 ^{*3}	190 ^{*1}	200 ^{*2}
					60			70	

125 **Polymers:** CS (a): Corn starch, CSPBS (b): Corn starch and cellulose of pseudostem of banana (*M. acuminata* ABB), PBS (c): Starch of
 126 pseudostem of banana (*M. sapientum* ABB), PBSC (d): Starch and cellulose of pseudostem of banana (*M. sapientum* ABB- *M.*
 127 *acuminata* AAA). **Pelletizer:** *1. Initial temperature; *2. Screw temperature; *3. Final temperature. **Mini-extruder:** *1. Initial
 128 temperature; *2. Final temperature.

2.5.1 Mechanical and optical properties

Bioplastic films were placed in a desiccator until $50 \pm 5\%$ relative humidity at 25 ± 2 °C for 48 h, based on ASTM F392/F392M-11 (2016), after were evaluated thickness, tensile strength, elongation to break and color for each bioplastic.

2.5.2 Fourier Transform Infrared Spectrometry (FT-IR) Analysis

Bioplastics obtained were cut into small circles about 0.5 cm in diameter (CS, CSPBS, PBS and PBSC) and compressed into thin films. Both, bioplastics and individual polymers (before their conversion to bioplastic) were analyzed by FT-IR. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) were recorded using a spectrometer Nicolet™ iS™ 50 FT-IR California, coupled to an ATR Smart iTX accessory, using the OMNIC software. Sample scanning was at the wavelength between 4000 and 515 cm^{-1} .

2.5.3 Scanning electron microscopy analysis

CS, CSPBS, PBS and PBSC were dried for 18 h at 20 °C and placed on an aluminum cylinder using adhesive tape on both sides, then covered with an Au-Pd layer of approximately 20 nm. Sample observation were at high vacuum of 6 KV, working distance 15 mm, opening 100 μm , Ss 7 in the Scanning Electron Microscope (TOPCON, model SM-510, Asia), a dryer at the Critical Point (CO_2), brand SPI SUPPLIES, Model SPI-DRY CPD and a metal depositor (Au-Pd) brand DENTON VACCUM, DESK II model.

2.5.4 Biodegradability test

Each bioplastic film was placed in pots with different treatments: a) pot with soil and agave seedlings; b) pots with vermicompost and c) pots with compost. These were watered every 3 days to preserve the wet system until the end of the experiment, and the degradation was recorded every week by capturing degradation images through a camera.

1. Results and Discussion

3.1 Lignocellulosic components present in banana pseudostem

The percentages of lignin, cellulose, hemicellulose and starch of *M. acuminata* AAA, *M. paradisiaca* AAB and *M. sapientum* ABB, showed in the Fig. 1.

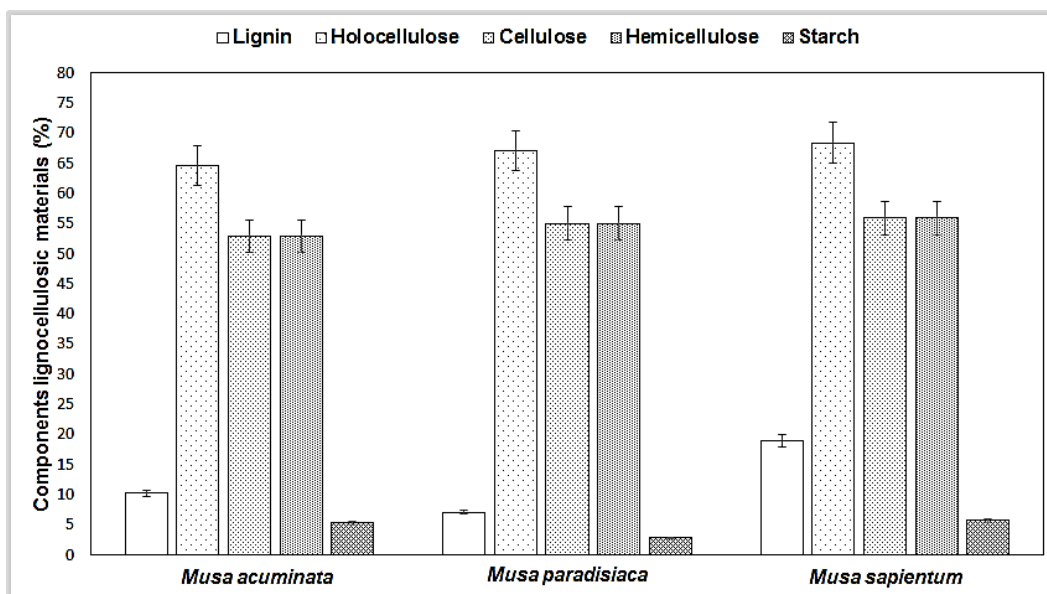


Fig. 1. Lignocellulosic and starch compounds present in *M. acuminata* AAA, *M. paradisiaca* AAB and *M. sapientum* ABB.

These results were similar with those obtained by Flores, García & Flores (2004) who evaluated lignocellulosic compounds of *M. acuminata* AAA, whose reports lignin (18.6%), cellulose (63.9%) and hemicellulose (1.3%). However, Paz (2011) reported a lower content of lignin (12.8%) from *M. acuminata* AAA.

In *M. paradisiaca* AAB, the content of lignin (7.15%) was similar to those of Gogoi et al., (2014), who reports 8.57%, holocellulose, which includes 55.06 % cellulose, 2.66% hemicellulose and starch with 2.89%.

Abdul, Bhat & Ireana (2012) reported similar results with *M. paradisiaca* AAB presenting 63.9% cellulose, 1.3% hemicellulose and for *M. sapientum* ABB obtained 19.01% lignin, 54.28% cellulose, 3.81% hemicellulose and 7.47% starch. These results were comparable to those obtained in this study with the exception that lignin content was higher. For this reason, we selected *M. acuminata* AAA for the extraction of cellulose because it had a lower percentage of lignin and *M. sapientum* ABB to extract the starch.

3.2 Cultivation of fungus *Phanerochaete chrysosporium*

Cultivation of the fungus *P. chrysosporium* was carried out as indicated in 2.1. Enzymatic extract from the fifth day was used in the next section to degrade lignin contained into cellulose fibers (Fig. 2).

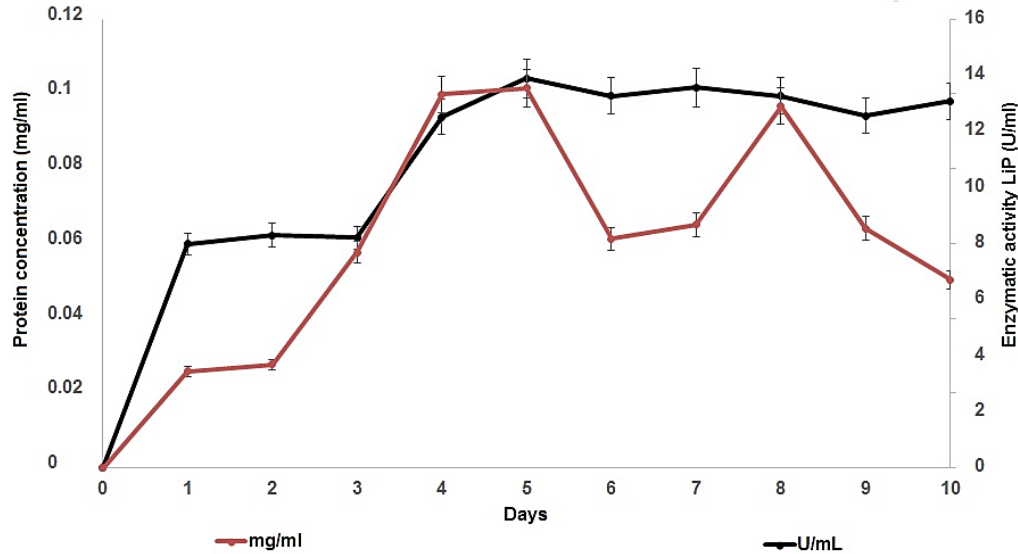


Fig. 2. Dynamics of the production of proteins (Bradford, 1976) and dynamics of enzyme activity of *P. chrysosporium* using wheat bran as substrate.

These results show a higher ligninolytic activity (LiP) at fifth and sixth days, with a LiP activity of 13.88 U LiP/ml. These results are comparable with the study by Fernández, Henao, Pedroza & Quevedo, (2009) where they evaluated the immobilization of fungi enzymes including *P. chrysosporium* using wheat bran, presenting a protein concentration of 0.16 ± 0.2 mg/ml on day 4. There are currently no reports of the enzymatic activity of *P. chrysosporium* LiP using wheat bran; Arboleda et al., (2003) report LiP activity of *P. chrysosporium* cultures using corn leaf and corn cob, resulting in 20 U LiP/ml on seventh day, similar to the results obtained in this work. Enzymatic extracts from the fifth day were used for the treatment of *M. acuminata* AAA pseudostem to carry out lignin removal at 28 °C for 48 h.

3.2.1 Determination of lignin

There are no previous reports of lignin degradation in *M. acuminata* AAA pseudostem using the enzymatic extract from *P. chrysosporium* in wheat bran, the percentage of lignin degradation observed in this study was 1.72%. Other works have reported the use of *P. chrysosporium* cultivated in sawdust and mulberry stems (*Morus alba*) (Villa & Espín, 2012) for lignin degradation (10 days), obtaining 1.89 and 0.95% respectively, these results were similar to those obtained in this work. Additional studies are needed to optimize the time of the enzymatic treatment to remove a higher lignin content.

3.3 Obtaining starch and cellulose (Yields)

The yield of these polymers was evaluated on a dry basis, taking into account the kg of green banana pseudostem that was processed. Starch yielded $3.77 \pm 0.23\%$ starting with 46.55 kg of green pseudostem of *M. sapientum* ABB, and finishing with 1.76 kg of dry starch, presented as granules of white-yellow color. For cellulose, a yield of $35.1 \pm 1.56\%$ was obtained, starting with 43.5 kg of green pseudostem of *M. acuminata* AAA and ending with 15.9 kg of dry base cellulose,

presented as brown-green fibers. The moisture content of starch and cellulose was measured before processing, resulting in $7.96 \pm 0.05\%$ and $2.34 \pm 0.05\%$, respectively.

Cordeiro, Belgacem, Torres & Moura, (2004) reported that the yield of starch present in banana pseudostem was 3 to 5%. In the case of cellulose; Méndez (2010) mentions that 30 to 50% yield can be obtained. Indicating in this way that the results found in this study are similar to those already reported.

3.4 Mechanical properties

Bioplastics were mixed and extruded, after they were stored at room temperature until their mechanical, optics and degradation analysis.

Results of tensile strength indicated that bioplastic with 70% pseudostem starch from *M. sapientum* ABB (PBS) showed highest tensile strength, and the one with the lowest tensile strength was the mix 65% corn starch and 5% cellulose from *M. acuminata* AAA pseudostem (CSPBS). The material composed 65% starch and 5% cellulose from *M. sapientum* ABB and *M. acuminata* AAA, respectively (PBSC), presented a value of 1.28 ± 0.42 MPa, this value was intermediate compared to the CS and PBS materials (Table 2):

Table 2. Mechanical properties

Samples	Tensile Strength (MPa)	Elongation to break (%)	Young's Modulus (MPa)	Thickness (mm)
CS (Control)	1.63 ± 0.23	53 ± 25.17	6.32 ± 0.65	0.58
CSPBS	1.10 ± 0.15	27.99 ± 14.72	5.26 ± 1.46	0.57
PBS	2.30 ± 0.14	77.93 ± 3.80	24.26 ± 2.88	0.4
PBSC	1.28 ± 0.42	81.63 ± 3.52	15.46 ± 3.67	0.42

Polymers: CS: Corn starch, CSPBS: Corn starch and cellulose of pseudostem of banana (*M. acuminata* ABB), PBS: Starch of pseudostem of banana (*M. sapientum* ABB), PBSC: Starch and cellulose of pseudostem of banana (*M. sapientum* ABB- *M. acuminata* AAA).

Material with the highest percentage elongation value was the PBSC material, with $81.63 \pm 3.52\%$, and the lowest was the CSPBS compound showing $27.99 \pm 14.72\%$. Polymer composite materials present in *M. acuminata* AAA-*M. sapientum* ABB pseudostem showed highest values in Young's Modulus 24.26 ± 2.88 and 15.46 ± 3.67 MPa (PBS and PBSC, respectively) compared to CS and CSPBS values (6.32 ± 0.65 and 5.26 ± 1.46 MPa, respectively). This analysis indicates the ease of a material to be stretched and to be able to recover its original length.

When using fibers, the materials tend to exhibit a higher stiffness. The material presents higher strength, less hardness and less deformation under tension, these mean it has characteristics of a rigid material (resistant), also shows a high percentage elongation to break (deformation), indicating that material can stretch and recover its original length, in addition to presenting a lower elasticity.

After analyzing the bioplastic, we found that is possible to obtain a plastic membrane from polymers present in pseudostem of *M. acuminata* AAA and *M. sapientum* ABB, which possess physical properties comparable to the control elaborated with corn starch. However, it can be seen that the formulation made with pseudostem polymers (PBSC, starch:cellulose (65:5) shows highly

percentage values of elongation compared to the other formulations using corn starch and cellulose of pseudostem (CS, CSPBS). In the case of tensile strength and elasticity, PBSC had an intermediate value compared with CS and CSPBS. These characteristics could be exploited for use in the packaging bioplastics industry.

Aila et al., (2013) evaluated mechanical properties of a biofilm made from chayote starch and cellulose fibers of cotton, glycerin and water, presenting values of tensile strength of 0.5 to 1.1 MPa. Their values showed an increase in the tensile strength due to a higher elongation of the starches from *M. acuminata* AAA-*M sapientum* ABB. They also evaluated percentage of elongation to break, which ranges from 25 to 61%, these values are lower than results obtained in the currently work, and this indicates that the bioplastic made with banana pseudostem polymers presents a higher elongation. Finally, they obtained similar Young's Modulus values (0.6 to 2.6 MPa) which are compared with our work.

As a summary, the material made with polymers of banana pseudostem, present a higher elasticity, reaching up to 24.26 ± 2.88 MPa, which indicates that material is resistant to rupture. It is important to mention that polymers used in this work contain $15.89 \pm 0.93\%$ of lignin which could be playing an important role in the mechanical properties observed.

The results of resistance to stress performed in this work was similar to those obtained by Miranda et al., (2015), Sudharsan et al., (2015), Guimarães et al., (2009) and Teixeira et al., (2009). This could be attributed to the elongation properties of starch.

For the case of elongation to break (%) and the Young's Modulus (MPa), Teixeira et al., (2009) and Miranda et al., (2015) present similar values to this study (Table 3).

Table 3. Characteristic of bioplastic prepared

Raw material	Tensile Strength (MPa)	Elongation to break (%)	Young's Modulus (MPa)	Reference
Tapioca flour/Fibers of cellulose <i>Sesbania javanica</i>	15 – 25	1.5 - 3	1300 - 1500	Kampangkaem, Thongpin & Santawtee, 2010.
Starch and cellulose of <i>Manihot esculenta</i>	1.8 – 4.8	29.8 – 92.4	16.8 – 84.3	Teixeira et al., 2009.
Corn starch/Banana cellulose	1.73	4.50	80.88	Guimarães et al., 2009.
Potato starch/Nanocellulose commercial	16.4	8.8	914.9	Hietala, Mathew & Oksman, 2012.
<i>Tamarindus indica</i> Starch/Cellulose commercial	1.42 – 7.45	175 - 553	N/P	Sudharsan et al., 2015.
Corn starch/fibers of cellulose <i>Bromelia penguin</i>	1.71 – 6.79	12 - 264	20 - 47	Miranda et al., 2015
Starch and cellulose of <i>Musa acuminata</i> y <i>Musa sapientum</i>	1.10 – 2.30	27 – 81.63	5.26 – 24.26	This work

Results of the cited works are compared with those obtained in the currently work. Therefore, can be proposed that starch and cellulose from pseudostems of *M. acuminata* and *M. sapientum*, are materials that could be potentially used in bioplastics elaboration.

3.5 Optical properties

The color evaluated for each bioplastic film from banana pseudostem polymers was black, obtaining the following values for the *Lab* plane for starch and cellulose of pseudostem (PBSC, L^* : 20.01 ± 2.39 , a^* : 2.03 ± 0.69 and b^* : 3.34 ± 0.97) Table 4. The black color is mainly due to the intrinsic presence of polyphenolic compounds into *M. acuminata* AAA pseudostem.

Table 4. Color

Sample	L^*	a^*	b^*	ΔE	Color
CS	37.48 ± 1.15	6.77 ± 1.05	15.86 ± 0.35		Light-brown
CSPBS	28.51 ± 1.94	1.05 ± 0.48	7.40 ± 0.55	13.03	Brown
PBS	22.38 ± 0.84	3.22 ± 0.61	5.19 ± 1.18	—————	Brown/Black
PBSC	20.01 ± 2.39	2.03 ± 0.69	3.34 ± 0.97	3	Black

Polymers: CS: Corn starch, CSPBS: Corn starch and cellulose of pseudostem of banana (*M. acuminata* ABB), PBS: Starch of pseudostem of banana (*M. sapientum* ABB), PBSC: Starch and cellulose of pseudostem of banana (*M. sapientum* ABB- *M. acuminata* AAA).

Lab values from color studies of biofilms obtained from banana flour, resulted in *L*: 83.60 to 62.55, *a*: 1.78 to 2.41 and *b*: 0.93 to 12.50, these are colors closer to yellow-white Nur et al., (2013). Comparing with the results found in this study (L^* : 20.01 ± 2.39 , a^* : 2.03 ± 0.69 and b^* : 3.34 ± 0.97) colors closer to brown-black, the differences was mainly due to the obtaining process. Polymers, especially the cellulose were treated with NaCl, NaOH, among other chemical compounds, resulting in the material bleaching (Yucang, Li, Zhou, Li & Zhou, 2015).

The UV-VIS spectrophotometry test was used to observe its ability to transmit light, to take color and to have brightness. In other words, analysis was performed to observe the magnitude that express the amount of light energy that a body passes through the unit of time (transmittance) in films in a wavelength area of light from 200 to 800 nm at a scan speed of 240 nm/min. Resulting in a 30% transmittance for the CS sample and for CSPBS, PBS and PBSC, the result was equal to zero, which is due to the black color of the bioplastic and to the fiber content of cellulose as well as due to the polyphenols content, thereby reducing the light transmittance of the prepared films.

3.6 Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR) Analysis

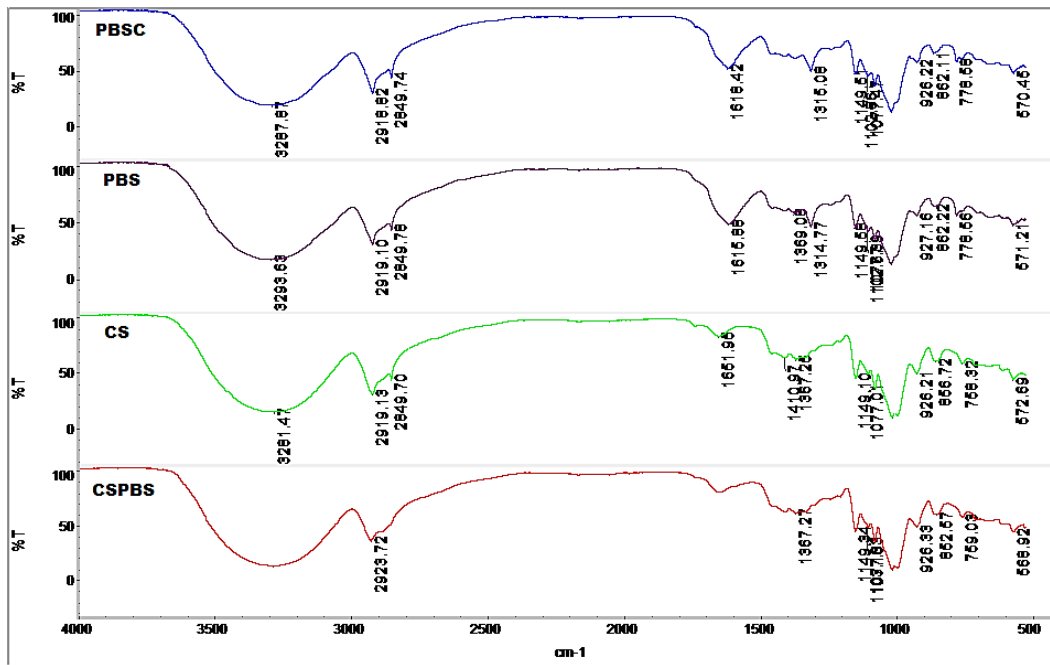


Fig. 3. Spectral FT-IR of films (CS, CSPBS, PBS y PBSC).

FT-IR spectra (Fig.3) show bands of characteristic functional groups present in the study materials, allowing the identification of chemical structures specific to each material. Individual samples of cellulose and starch of pseudostem (*M. acuminata* AAA and *M. sapientum* ABB), corn starch powders and each bioplastics CS, CSPBS, PBS and PBSC, broad bands of 3600 to 3000 cm⁻¹ were observed. Finding a maximum of absorption between 3318 and 3281 cm⁻¹ corresponding to the stress associated with the hydroxyl groups of each polymer (Bootklad & Kaewtatip 2013). The absorption bands between 2918 and 2930 cm⁻¹ correspond to the stretching vibrations between C-H, these bonds are very abundant in organic compounds, indicating the presence of starch and cellulose. The band present between 1651 and 1595 cm⁻¹ is due to an H-O-H bending vibration of H₂O, indicating that the polymers are hygroscopic. In the case of the cellulose a wider band was presented in comparison to the other spectra, because of its porous structure and the absorption of water tends to be higher (Mendoza et al., 2011). For the case of the evaluated treatments (CS, CSPBS, PBS and PBSC), there is little water absorption due to the optimal conditions at which they were handled, mainly controlling humidity. In addition, bands between 1149 and 1075 cm⁻¹ are present, these characteristics of the polysaccharides being due to the strain deformation in C-O-C bonds of the glycosidic rings (Gogoi et al., 2014). The bands present between 1000 and 900 cm⁻¹ are particular to aromatic groups, with a broad and strong absorption band, indicating a higher tension vibration in the sample of powdered cellulose, due to the presence of lignin (Garcia & Torres, 2011).

All the bands analyzed had absorption at specific wavelengths; this pattern determines the presence of polysaccharides, with starch and cellulose being the molecules of interest used in this study. Therefore, there is a similarity in the FT-IR spectra, due to the physical interactions between thermoplastic starch and cellulose (including 15% of lignin contained in cellulose fibers). When

analyzing these results, they indicate that the obtained material (PBSC), fulfills with desirable characteristics, obtaining a homogeneous mixture of polymers.

3.7 Scanning electron microscope (SEM)

The photographs obtained from the SEM of the surfaces of the samples evaluated were as follows (Fig. 4):

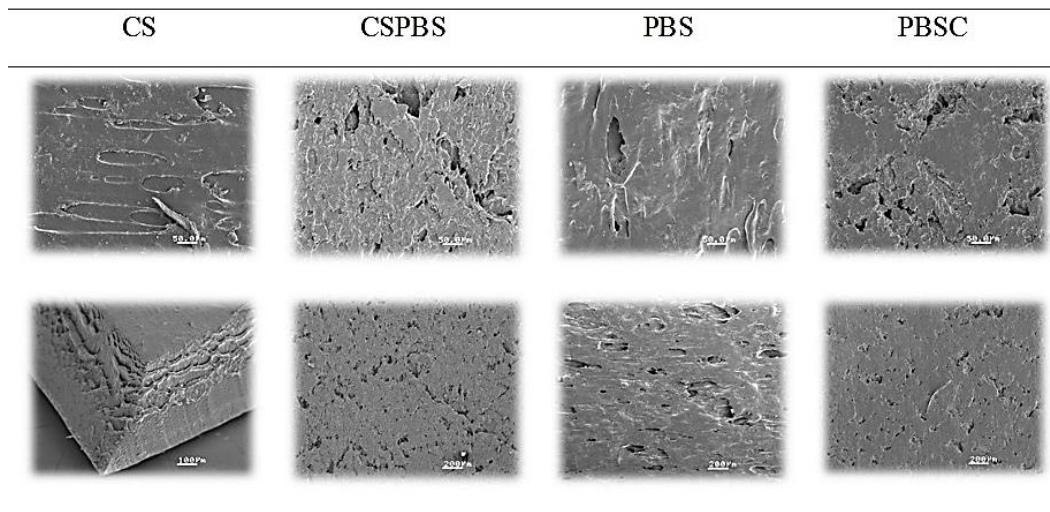


Fig. 4. Films microphotograph by SEM

Transversal section of each biofilm was observed by SEM. For the CS sample, a thin, smooth surface with small bubbles is observed (50 and 100 μm), while for the PBS sample, a rough and thick surface with irregular edges is shown (50 and 200 μm). The presence of pores in the case of the CSPBS and PBSC samples, a porous material (50 and 200 μm) is observed, this being given by the cellulose fibers. In turn, the material was coated by the starch matrix so this allowed the interaction with cellulose fibers to be good enhancing their appearance and their tensile properties. This study was compared with Alves, Reis & Menezes, (2015), where they analyzed thin films based on corn, starch, glycerin, and cellulose, showing a homogeneous appearance (uniform interactions between the components), with compact structure and presence of pores.

The pores was similarly observed in samples CSPBS, PBS and PBSC, showing small empty spaces within the material, this is mainly due to the extrusion process and the presence of water, which formed small air bubbles. Compaction and thickness of the samples resulted in resistant films as shown in the results for the mechanical properties performed (Table 2).

3.8 Biodegradability test

This study allowed to observe the capacity degradation of each biofilm in the same conditions, with semi-arid land (of Hermosillo, Sonora), maintaining a humidity of 41%. The same method was performed with vermicompost and compost (of Tapachula, Chiapas), maintaining a humidity of 73%. The results were 53 and 30 days, respectively, observing the total disintegration of the samples.

2. Conclusion

The polymers, starch and cellulose from *M. sapientum* ABB and *M. acuminata* AAA (with 15% lignin), respectively were used to elaborate an eco-friendly bioplastic.

The composite material was prepared and its mechanical and optical properties were studied, emphasizing that the material presents characteristics of a bioplastic (ASTM D3039/D3039M-00), these being tensile strength (MPa), elongation at break (%) and its elasticity (MPa), in addition to color and light transmittance (UV-VIS).

Methods of characterization of the material that were used were the technique FT-IR and SEM indicating the homogenization and the stretching (flexion) of the functional groups in the chemical composition. In addition, a biodegradability test was performed, resulting in total material degradation (ASTM D6363/D6363M-08).

Bioplastic obtained presented an interaction between the thermoplastic starch and the cellulose, contributing to have mechanical and optical properties acceptable for an extensive use at industrial level and with several applications.

3. Acknowledgments

CJC is grateful for the support given by *Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología* (CONACYT) for the scholarship. Thank to for their technical support to: M.S. Raúl Cuevas González (agricultural residues), M.S. María Guadalupe López Nieto (SEM Lab), M.S. María Guadalupe Albarrán Rivas (Biotechnology Lab), M.S. Elizabeth Peralta (Materials lab). To all thank you for their knowledge-sharing to my training.

4. Competing Interests

The authors declare no conflict of interests.

5. References

- Abdul K, H. P. S., Bhat, A. H., Ireana Y, A. F. (2012). Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. *Carbohydrate Polymers* 87, 963-979.
- Aila, S., Palma, H., Rodríguez, A., Hernández, J., Bello, L., Vargas, A. (2013). Characterization of films made with chayote tuber and potato starches blending with cellulose nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 98, 102–107.
- Alves, J.S. Reis, K. C., Menezes E. G. T. (2015). Effect of cellulose nanocrystals and gelatin in corn starch plasticized films. *Carbohydrate Polymers*, 115, 215–222.
- Arboleda E., Carolina., Segura S. F., Castrillon O., Carla C., Giraldo A., Newar A., Mejía G., A.I. (2003). Obtención de la enzima ligninoperoxidasa por fermentación en estado sólido del *Phanerochaete chrysosporium* sobre capacho y tusa de maíz. *Vitae*, 10, 25–33.
- ASTM D3039/D3039M-00. (2002). Standard test method for tensile properties of polymer matrix composite materials.
- ASTM D6363/D6363M-08. (2003). Standard specifications for biodegradable plastic.

- ASTM F392/F392M-11. (2016). Standard practice for conditioning flexible barrier materials for flex durability 1.
- Benavides M., T.R. (2014). Síntesis y caracterización de membranas de acetato de celulosa, obtenidas a partir de desechos agroindustriales. Tesis de Licenciatura en Ciencias Químicas. Universidad de El Salvador.
- Bolio, G.I., Valadez, A., Veleza, L., Andreeva, A. (2011). Whiskers de celulosa a partir de residuos agroindustriales de banano: Obtención y caracterización. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 10, 291–299.
- Bootklad, M., Kaewtatip, K. (2013). Biodegradation of thermoplastic starch / eggshell powder composites. *Carbohydrate Polymers*, 97, 315–320.
- Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 254, pp.248–254.
- Carchi M., D. E. (2014). Aprovechamiento de los residuos agrícolas provenientes del cultivo de banano para obtener nanocelulosa. Tesis de Licenciatura Especialista en Ingeniería Química. Universidad de Cuenca, Ecuador.
- Cordeiro, N., Belgacem, M. N., Torres, I. C., Moura, J. C. (2004). Chemical composition and pulping of banana pseudo-stems. *Industrial Crops and Products*, 19, 147–154.
- Farrell, R.L. Kirk, K., Croan S., Tien M. (2016). Production of multiple ligninases by *Phanerochaete chrysosporium*: Effect of selected growth conditions and use of a mutant strain. *Enzyme and Microbial Technology*, 8, 27-32.
- Fernández, J.A., Henao, L. M., Pedroza, A. M., Quevedo, B. (2009). Immobilising ligninolytic fungus for removing reactive black 5 dye. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11, 1–14.
- Flores, E., García, F., Flores, E. (2004). Rendimiento del proceso de extracción de almidón a partir de frutos de plátano (*Musa paradisiaca*). Estudio en planta piloto. *Acta Científica Venezolana*, 55, 86–90.
- García T., A. M., Torres S., R.G. (2003). Producción de enzimas lignolíticas por *Basidiomycetes* mediante la técnica de fermentación en sustrato sólido. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 1, 56–64.
- Gogoi, K., Mausoom, M., Pradeep, S., Sedar, P., Kumar, B., Kumar, T. (2014). Valorization and miscellaneous prospects of waste *Musa balbisiana* Colla Pseudostem. *Journal of Waste Management*, 1-8.
- González, P., Medina, C., Fama, L., Goyanes, S. (2016). Biodegradable and non-retrogradable eco-films based on starch – glycerol with citric acid as crosslinking agent, *Carbohydrate Polymers*, 138, 66–74.
- Guimarães, J.L., Frollini, E., Da Silva C., Wypych, F., Satyanarayana, K. (2009). Characterization of banana, sugarcane bagasse and sponge gourd fibers of Brazil. *Industrial Crops and*

Products, 30, 407–415.

- Hietala, M., Mathew, A.P., Oksman, K. (2013). Bionanocomposites of thermoplastic starch and cellulose nanofibers manufactured using twin-screw extrusion. *European Polymer Journal*, 49, 950–956.
- Méndez, D. C., A.E. (2010). Extracción de almidón del banano verde (*Musa Sapientum* variedad Gran Enano) producto de desecho de las industrias bananeras y evaluación de su función como excipiente en la formulación de comprimidos. Tesis de Licenciatura en Ciencias químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala.
- Mendoza Q., R., Velilla D, W. (2011). Methodology for the thermo-mechanical characterization of biodegradable plastic films. *Prospectiva*, 9, 46–51.
- Miranda, C.S., Ferreira, M., Magalheaes, J. Santos., Wilton, Oliveira, J., Silva, José, N. (2015). Mechanical thermal and barrier properties of starch-based films plasticized with glycerol and lignin and reinforced with cellulose nanocrystals. *Materials Today: Proceedings*, 2, 63–69.
- Nur H., Z.A., Jasny, N.R., Abdul H., N. (2013). Potential of green banana as biodegradable packaging films. *2nd International Conference on Environment, Energy and Biotechnology*, 51, 139–142.
- Paz González, Y.T. (2011). Evaluación de las pulpas obtenidas a partir del pseudotallo de plátano para la elaboración de papel. Tesis de Maestría en Ciencias Ambientales. Universidad de Zulia. Venezuela.
- Kampangkaew, S., Thongpin, C., Santawtee, O. (2014). The synthesis of cellulose nanofibers from *Sesbania javanica* for filler in thermoplastic starch. *Energy Procedia*, 56, 318–325.
- SIAP, 2016. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. *Atlas agroalimentarios 2016*. México.
- Sudharsan, K., Chandra, C., Azhagu, P., Archana, G., Sabina, K., Sivarajan, M., Sukumar, M. (2015). Production and characterization of cellulose reinforced starch (CRT) films. *Biological Macromolecules*, 83, 11-37.
- TAPPI 211 and 222 OM-02 standards (2006). Acid-insoluble lignin in wood and pulp. Chemical properties.
- Tharanathan, R. (2003). Biodegradable films and composite coatings: past, present and future. *Trends in Food Science & Technology*, 14, 71–78.
- Teixeira, E.D.M., Pasquini, D., Curvelo, A., Corradini, E., Belgacem, M., Dufresne, A. (2009). Cassava bagasse cellulose nanofibrils reinforced thermoplastic cassava starch. *Carbohydrate Polymers*, 78, 422–431.
- Villa, Y., Espín, N. (2012). Determinación de la cinética de crecimiento del hongo *Phanerochete chrysosporium* en residuos lignocelulósicos y determinación de la actividad ligninoperoxidásica. *Revista politécnica*, 70–74.

Yucang Z. W., Li J., Zhou Y., Li R., Zhou W. (2015). Characterization of cellulose from banana pseudo-stem by heterogeneous liquefaction. *Carbohydrate Polymers*, 132, 513-+