

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**ELABORACION DE PLÁSTICOS BIODEGRADABLES A PARTIR DE  
POLISACARIDOS Y SU ESTUDIO DE BIODEGRADACION A NIVEL DE  
LABORATORIO Y CAMPO**

**T E S I S  
QUE PRESENTA LA**

**M. C. KATIUSHKA AREVALO NIÑO**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE**

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**CON ESPECIALIDAD EN**

**BIOTECNOLOGIA**

Monterrey, N.L. México

Noviembre , 1996.

TD  
TD798  
A7  
C.1



1080073271

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**



**ELABORACION DE PLASTICOS BIODEGRADABLES A PARTIR DE  
POLISACARIDOS Y SU ESTUDIO DE BIODEGRADACION A NIVEL DE  
LABORATORIO Y CAMPO**

**T E S I S  
QUE PRESENTA LA**

**M. C. KATIUSHKA AREVALO NIÑO**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE**

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**CON ESPECIALIDAD EN**

**BIOTECNOLOGIA**

Monterrey, N.L. México

Noviembre , 1996.

TO  
TD 778  
A7



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON  
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**ELABORACION DE PLASTICOS BIODEGRADABLES A PARTIR DE  
POLISACARIDOS Y SU ESTUDIO DE BIODEGRADACION A NIVEL DE  
LABORATORIO Y CAMPO**

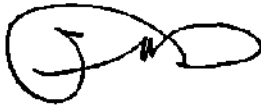
**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR  
EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN MICROBIOLOGIA  
POR**

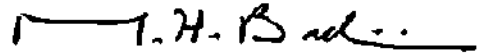
**M. C. KATIUSHKA AREVALO NIÑO**

**APROBADA**

**COMISION DE TESIS**



**DR. LUIS J. GALAN WONG  
DIRECTOR  
PRESIDENTE**



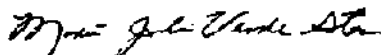
**DR. MOHAMMAD H. BADI  
SECRETARIO**



**DR. SYID H. IMAM  
ASESOR EXTERNO  
VOCAL**



**DRA. ELIZABETH CRUZ  
VOCAL**



**DRA. JULIA VERDE STAR  
VOCAL**

**Monterrey, N.L. México**

**Noviembre, 1996**

**EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZO EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL Y DEL SUELO “ DR. H. T. DULMAGE”, DEL DEPARTAMENTO DE MIROBIOLOGIA E INMUNOLOGIA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLOGICAS, U.A.N.L., EN COLABORACION CON LA UNIDAD DE BIOPOLIMEROS DEL CENTRO NACIONAL PARA LA UTILIZACION DE LA INVESTIGACION EN AGRICULTURA, ARS/USDA/NCAUR, PEORIA, ILLINOIS, EUA., BAJO LA DIRECCION INTERNA DEL DR. LUIS J. GALAN WONG (FCB/UANL) Y DIRECCION EXTERNA DEL DR. SYED H. IMAM (ARS/USDA/NCAUR).**

## INDICE DE CONTENIDO

Página

Página de título.....	i
Lugar de Trabajo.....	ii
Indice de contenido.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de Abreviaturas.....	vi
Lista de Tablas.....	vii
Lista de Figuras.....	viii
Resúmen.....	1
Abstract.....	2
Introducción.....	3
Importancia.....	7
Hipótesis.....	9
Objetivos.....	9
Antecedentes.....	10
Que son los Plásticos.....	10
Polímeros: Estructura, Propiedades y Aplicaciones.....	10
Producción y Problemática de los Plásticos.....	13
Plásticos Biodegradables.....	16
Propiedades del Almidón.....	21
Plásticos a base de Almidón.....	24
Biodegradación del Almidón.....	35
Perspectivas en el Mercado para Plásticos Biodegradables.....	36
Otros Polímeros Biodegradables.....	43
a) Lignina.....	43
b) Quitina.....	44
c) Pectina.....	50
d) Pululan.....	51



<b>Material y Metodos.....</b>	<b>54</b>
<b>A) Elaboración de los Plásticos.....</b>	<b>54</b>
<b>B) Pruebas de Biodegradabilidad.....</b>	<b>57</b>
<b>i) Pruebas de Laboratorio.....</b>	<b>57</b>
a) Microorganismos.....	57
b) Mantenimiento de las cepas.....	57
c) Inóculo.....	57
d) Preparación de las muestras.....	58
e) Determinación de pérdida en peso.....	58
f) Determinación de crecimiento microbiano.....	59
g) Determinación de % de Elongación y Fuerza de Tensión	59
h) Análisis por Espectroscopía de Infrarojo.....	59
<b>ii) Pruebas en Ecosistemas Naturales.....</b>	<b>60</b>
- Río.....	60
a) Lugar de prueba.....	60
b) Preparación de las muestras.....	61
c) Determinación de pérdida en peso.....	61
d) Análisis por Espectroscopía de Infrarojo.....	62
e) Análisis por Microscopía Electrónica de Barrido.....	62
f) Análisis de Flora Microbiana Adherida a la Muestra.....	62
- Suelo.....	63
a) Lugar de prueba.....	63
b) Preparación de las muestras.....	63
c) Determinación de pérdida en peso.....	63
d) Determinación de pH.....	64
e) Determinación de Humedad.....	64
f) Determinación de % de Elongación y Fuerza de Tensión	64
g) Análisis por Espectroscopía de Infrarojo.....	64

<b>C) Análisis Estadístico.....</b>	<b>64</b>
<b>Resultados.....</b>	<b>65</b>
<b>Discusión.....</b>	<b>133</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>143</b>
<b>Recomendaciones.....</b>	<b>145</b>
<b>Literatura Citada.....</b>	<b>147</b>
<b>Apéndice.....</b>	<b>159</b>

## **DEDICATORIA**

### **A mi hija Karla Katiushka:**

**Por la fuerza y el coraje de vivir que siempre has tenido y que me has enseñado a tener. Por todos los momentos dulces y amargos que pasamos juntas. Porque desde que estas conmigo he podido entender y valorar lo que significa ser madre y sobre todo porque eres la razón de mi existencia.**

**Hija, te quiero mucho.**

### **Al ángel que Dios tiene en el cielo:**

**Porque aunque no estes con nosotros físicamente, en mi corazón siempre te llevaré.**

### **A Carlos, mi esposo:**

**Porque esta meta también es tuya. Porque gracias a tu amor y tu comprensión pude sobreponerme a todos los obstáculos que solo tú y yo sabemos y finalizar este trabajo. Porque siempre estuviste a mi lado brindandome tu ayuda técnica y sobre todo tu apoyo moral, por cuidar a Karlita y ser un padre maravilloso, Muchas Gracias.**

**Porque te amo.**

### **A mi madre:**

**Por habermes dado la la vida y la oportunidad de estudiar y así poder ser un ejemplo para mi hija. Porque tú siempre has sido un ejemplo para mi, porque aunque pienso que la vida no ha sido justa contigo se que vas a tener tu recompensa. Por ser una gran madre y una gran maestra, te dedico este trabajo esperando estes orgullosa de mi como yo lo estoy de ti por la fortaleza que mi hija heredo de ti.**

**Madre, te quiero.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A DIOS:** Porque ante las pruebas más difíciles, cuando senti que tu mano me había abandonado por completo, apareciste como una luz que iluminó mi camino. Gracias Dios mío por todo lo que me has dado en esta vida, por permitirme lograr esta meta, por estar siempre conmigo y con los míos, por permitir que se quedará mi hija conmigo. Muchas Gracias.

**AL DR. LUIS J. GALAN WONG:** Por la confianza que depositó en mí hace tantos años y que espero no haber defraudado, por haberme dado la oportunidad de desarrollarme y formarme como investigador. Por su valiosa amistad.

**AL DR. SYED H. IMAM:** Porque aún sin conocerme confió en mí para este proyecto, por su asesoría y dirección durante todo el desarrollo de este trabajo, por todos los conocimientos que he adquirido al trabajar con él. Porque siempre recibí su apoyo incondicional. Por la amistad que hemos sembrado. Gracias.

**A LOS MIEMBROS DEL COMITE DE TESIS DOCTORAL:** Por la revisión de este trabajo y las valiosas contribuciones que dejaron en él, pero sobre todo por contribuir en mi formación profesional al plasmar sus sugerencias y observaciones.

**A LA DRA. JULIA VERDE STAR:** Por el apoyo incondicional que siempre recibí de ud. como Jefe de la División de Posgrado de esta Facultad para la realización de este trabajo.

**AL DR. RAHIM FOROUGHBAKHCH P. Y M.C. ROBERTO MERCADO:** Por su valiosa asesoría en el análisis estadístico.

**A LOS INVESTIGADORES DEL NACAUR:** Dr. Richard V. Greene, Jefe de la Unidad de Biopolímeros del ARS/USDA/NCAUR, por la confianza y el apoyo que siempre me brindó. Dr. Sheral H. Gordon, por sus brillantes contribuciones y sus consejos en el análisis de FTIR. Dr. Arthur Thompson y Dr. Rogers Harry-O'Kuru por su asistencia en los estudios de NMR. Dr. Rick Haig por su apoyo en el manejo del equipo para las pruebas físicas. Dr. Lee Baker por las excelentes fotografías de SEM y al Dr. Tom Stein por el tiempo invertido en el desarrollo de los modelos químicos tridimensionales.

**AL NCAUR DE PEORIA, ILL.:** Por el apoyo en infraestructura que recibí de este Centro como parte del Convenio de Investigación que existe entre NCAUR-UANL. Gracias a todo el personal de este maravilloso centro por su gentileza y amabilidad.

**AL PERSONAL DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL Y DEL SUELO:** Por su ayuda, tiempo y consejos, por los momentos que hemos compartido. Gracias.

**A CONACYT:** Por el apoyo económico para la realización de este trabajo.

**A LILI:** Por los consejos, sugerencias, críticas, risas, enojos y todos los momentos que compartimos, por tu amistad. Gracias.

**A MIS HERMANOS Y SOBRINOS:** Esperando que comprendan lo que esta meta significa para mi y por aceptarme como soy. Gracias.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ASTM	Sociedad Americana de Pruebas y Métodos.
ADN	Acido Desoxiribonucleico
ARS	Servicio de Investigación Agrícola
BPS	Sociedad de Plásticos Biodegradables
CP/MAS <sup>13</sup> C-NMR	Resonancia Magnética Nuclear en Estado Sólido con <sup>13</sup> C
° C	grados centígrados
ca.	aproximadamente
cm	centímetro
¢	centavos
CO <sub>2</sub>	dióxido de carbono
dls	dólares
EAA	Copolímero de etileno y ácido acrílico
EUA	Estados Unidos de América
FCB	Facultad de Ciencias Biológicas
Fig	Figura
g	gramo
GPC	Cromatografía de Permeación en Gel
h	hora
HCl	Acido clorhídrico
IRTF	Infrarrojo con transformadas de Fourier
Kg	kilogramo
l	litro
Lab	laboratorio
LD <sub>50</sub>	dosis letal media
ml	mililitro
min	minuto

<b>mg</b>	<b>miligramo</b>
<b>MPa</b>	<b>MegaPascal</b>
<b>NCAUR</b>	<b>Centro Nacional para la Utilización de la Investigación en Agricultura</b>
<b>NMR</b>	<b>Resonancia Magnética Nuclear</b>
<b>pH</b>	<b>logaritmo recíproco de la concentración de ion hidrógeno</b>
<b>psi</b>	<b>presión interna</b>
<b>PEBD</b>	<b>polietileno de baja densidad</b>
<b>PEBDL</b>	<b>polietileno de baja densidad lineal</b>
<b>PHB</b>	<b>polihidroxibutirato</b>
<b>PHV</b>	<b>polihidroxivalerato</b>
<b>PVA</b>	<b>polivinilalcohol</b>
<b>PE</b>	<b>polietileno</b>
<b>PVC</b>	<b>cloruro de polivinilo</b>
<b>PEG</b>	<b>polietilenglicol</b>
<b>rpm</b>	<b>revoluciones por minuto</b>
<b>UANL</b>	<b>Universidad Autónoma de Nuevo León</b>
<b>USDA</b>	<b>Departamento de Agricultura de estados Unidos</b>

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla No.</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
1	Costo aproximado de los polímeros biodegradables y niveles de producción en 1993.	77
2	Compañías Productoras de Polímeros Biodegradables.	78
3	Propiedades Físico-mecánicas de las 10 membranas plásticas formuladas.	79
4	Diferencia de Peso Promedio de los formulados en las diferentes fechas de colecta expuestos al consorcio bacteriano LD-76.	83
5	Diferencia de Peso promedio de los formulados después de 45 días de exposición al consorcio bacteriano LD-76.	83
6	Diferencia de Peso promedio de los formulados después de 90 días de exposición a <i>Serratia marscesens</i> .	87
7	Diferencia en Peso promedio de los formulados en las diferentes fechas de colecta expuestos a <i>Serratia marscesens</i> .	87
8	Porcentaje de pérdida en peso de los formulados en agitación en el medio de cultivo sin inóculo.	88
9	Análisis de pH, temperatura y número de microorganismos presentes en las muestras de agua en las diferentes fechas de colecta en el experimento en Río.	91
10	Porcentaje de pérdida en peso de los formulados después de 120 días de exposición en suelo de jardín (Período Enero - Mayo'95).	92
11	Diferencia en Peso promedio de los formulados en las diferentes fechas de colecta, colocados en suelo de jardín durante 120 días (Período Enero - Mayo'95).	92
12	Porcentaje de pérdida en peso de los formulados después de 120 días de exposición en suelo de jardín (Período Octubre'94 - Enero'95).	93



<b>13</b>	<b>Análisis Fisicoquímico del suelo de jardín, ubicado en la Fac. C. Biológicas, U.A.N.L.</b>	<b>93</b>
<b>14</b>	<b>Valores de pH del suelo de jardín de las diferentes fechas de colecta de los formulados (Período Enero - Mayo'94).</b>	<b>94</b>
<b>15</b>	<b>Contenido de Humedad del suelo de jardín correspondiente a las diferentes fechas de colecta para los formulados (Período Enero - Mayo'94).</b>	<b>94</b>
<b>16</b>	<b>Valores de temperatura promedio del suelo de jardín (Período Enero - Mayo'94).</b>	<b>95</b>
<b>17</b>	<b>Número de microorganismos recuperados del medio de cultivo en el experimento de laboratorio con el consorcio LD-76.</b>	<b>96</b>
<b>18</b>	<b>Número de microorganismos recuperados del medio de cultivo en el experimento de laboratorio con <i>Serratia marscesens</i>.</b>	<b>97</b>
<b>19</b>	<b>Número de microorganismos adheridos por cm<sup>2</sup> de muestra de los formulados colocados en el Rio "La Silla".</b>	<b>98</b>
<b>20</b>	<b>Número de microorganismos adheridos por cm<sup>2</sup> de muestra de los formulados colocados en suelo de jardín (Enero a Mayo'94).</b>	<b>99</b>
<b>21</b>	<b>Número de microorganismos adheridos por cm<sup>2</sup> de muestra de los formulados colocados en suelo de jardín (Octubre'94 a Enero'95).</b>	<b>100</b>
<b>22</b>	<b>Por ciento de pérdida en absorbancia en la region del grupo OH y del grupo C-O en la region de la huella digital correspondientes a los carbohidratos presentes en las membranas formuladas.</b>	<b>128</b>
<b>23</b>	<b>Por ciento de pérdida en el contenido de carbohidratos estimado por CP/MAS <sup>13</sup>C-NMR de muestras recuperads del Experimento de río a los 62 días de exposición.</b>	<b>132</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura No.	Título	Página
1	Por ciento de pérdida en peso en membranas del grupo 4, expuestas al consorcio LD-76 en laboratorio por 45 días.	80
2	Por ciento de pérdida en peso en membranas del grupo 1, expuestas al consorcio LD-76 en laboratorio por 45 días.	80
3	Por ciento de pérdida en peso en membranas del grupo 2, expuestas al consorcio LD-76 en laboratorio por 45 días.	81
4	Diferencia de peso de los formulados durante el experimento de laboratorio con el consorcio LD-76.	82
5	Diferencia de peso en las fechas de colecta del experimento en laboratorio con el consorcio LD-76, en los diferentes formulados.	82
6	Por ciento de pérdida en peso en membranas del grupo 4, expuestas a <i>Serratia marscesens</i> en laboratorio por 45 días.	84
7	Por ciento de pérdida en peso en membranas del grupo 1, expuestas a <i>Serratia marscesens</i> en laboratorio por 45 días.	84
8	Por ciento de pérdida en peso en membranas del grupo 2, expuestas a <i>Serratia marscesens</i> en laboratorio por 45 días.	85
9	Diferencia de peso de los formulados durante el experimento de laboratorio con <i>Serratia marscesens</i> .	86
10	Diferencia de peso en las fechas de colecta del experimento en laboratorio con <i>Serratia marscesens</i> .	86
11	Por ciento de pérdida en peso en membranas del grupo 4, después de 62 días de exposición en río.	89
12	Por ciento de pérdida en peso en membranas del grupo 3, después de 62 días de exposición en río.	89
13	Por ciento de pérdida en peso en membranas del grupo 1, después de 62 días de exposición en río.	90

14	Porciento de pérdida en peso en membranas del grupo 2, después de 62 días de exposición en río.	90
15	Porciento de Elongación de Formulados del Grupo 1 (Almidón), después de 45 días de exposición al consorcio bacteriano LD-76.	101
16	Porciento de Elongación de Formulados del Grupo 2 (Quitina), después de 45 días de exposición al consorcio bacteriano LD-76.	102
17	Porciento de Elongación de Formulados del Grupo 4 (Pectina), después de 45 días de exposición al consorcio bacteriano LD-76.	103
18	Fuerza de Tensión de formulados del Grupo 1 (Almidón), después de 45 días de exposición al consorcio bacteriano LD-76.	104
19	Fuerza de Tensión de formulados del Grupo 2 (Quitina), después de 45 días de exposición al consorcio bacteriano LD-76.	105
20	Fuerza de Tensión de formulados del Grupo 4 (Pectina), después de 45 días de exposición al consorcio bacteriano LD-76.	106
21	Porciento de Elongación de Formulados del Grupo 1 (Almidón), después de 120 días de exposición a Suelo en el período de Enero-Mayo'94.	107
22	Porciento de Elongación de Formulados del Grupo 2 (Quitina), después de 120 días de exposición a Suelo en el período de Enero-Mayo'94.	108
23	Porciento de Elongación de Formulados del Grupo 4 (Pectina), después de 120 días de exposición a Suelo en el período de Enero-Mayo'94.	109
24	Fuerza de Tensión de formulados del Grupo 1 (Almidón), después de 120 días de exposición a Suelo en el período de Enero-Mayo'94.	110
25	Fuerza de Tensión de formulados del Grupo 2 (Quitina), después de 120 días de exposición a Suelo en el período de Enero-Mayo'94.	111
26	Fuerza de Tensión de formulados del Grupo 4 (Pectina), después de 120 días de exposición a Suelo en el período de Enero-Mayo'94.	112

27	Porciento de Elongación de Formulados del Grupo 1 (Almidón), después de 120 días de exposición a Suelo en el período de Octubre'94-Enero'95.	113
28	Porciento de Elongación de Formulados del Grupo 2 (Quitina), después de 120 días de exposición a Suelo en el período de Octubre'94-Enero'95.	114
29	Porciento de Elongación de Formulados del Grupo 4 (Pectina), después de 120 días de exposición a Suelo en el período de Octubre'94-Enero'95.	115
30	Fuerza de Tensión de formulados del Grupo 1 (Almidón), después de 120 días de exposición a Suelo en el período de Octubre'94-Enero'95.	116
31	Fuerza de Tensión de formulados del Grupo 2 (Quitina), después de 120 días de exposición a Suelo en el período de Octubre'94-Enero'95.	117
32	Fuerza de Tensión de formulados del Grupo 4 (Pectina), después de 120 días de exposición a Suelo en el período de Octubre'94-Enero'95.	118
33	Fotografía de Microscopía Electrónica de Barrido mostrando la adhesión de microorganismos y el deterioro de las membranas en formulados con los diferentes polisacáridos y en los controles, después de 62 días de exposición en río.	119
34	Espectros de IRTF de los controles F9 (PEBD) y F10 (EAA) a los 0 días y después de exponerse por 45 días al consorcio bacteriano LD-76, 62 días en río y 120 días en suelo.	120
35	Espectros de IRTF de los polisacáridos utilizados en la elaboración de las diferentes membranas.	121
36	Espectros de IRTF del formulado F1 (grupo de almidón), antes y después de ser expuesto a los diferentes ecosistemas de estudio.	122
37	Espectros de IRTF del formulado F2 (grupo de almidón), antes y después de ser expuesto a los diferentes ecosistemas de estudio.	123
38	Espectros de IRTF del formulado F6 (grupo de almidón), antes y después de ser expuesto a los diferentes ecosistemas de estudio.	124

39	Espectros de IRTF de los formulados F3 y F7 (grupo de quitina), antes y después de ser expuesto a los diferentes ecosistemas de estudio.	125
40	Espectros de IRTF del formulado F4 (grupo de pululan), antes y después de 62 días de exposición en río.	126
41	Espectros de IRTF de los formulados F5 y F8 (grupo de pectina), antes y después de ser expuesto a los diferentes ecosistemas de estudio.	127
42	Espectros de CP/MAS <sup>13</sup> C-NMR del formulado F1 (grupo almidón), antes y después de 62 días de exposición en río.	129
43	Espectros de CP/MAS <sup>13</sup> C-NMR del formulado F1 (grupo quitina), antes y después de 62 días de exposición en río.	130
44	Espectros de CP/MAS <sup>13</sup> C-NMR del formulado F5 (grupo almidón), antes y después de 62 días de exposición en río.	131