



GOBIERNO DE
MÉXICO



CONACYT

CONSEJO NACIONAL DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN QUÍMICA APLICADA

Saltillo, Coahuila a 4 de julio de 2023

Coordinación de Posgrado
Presente

Por este conducto nos permitimos informar a esta coordinación que, el documento de Caso de Estudio preparado por LAURA LIDIA HERNÁNDEZ BAUTISTA titulado Agro-bioplásticos: Metodologías de extracción, identificación y cuantificación el cual fue presentado el día 30 de junio de 2023, ha sido modificado de acuerdo a las observaciones, comentarios y sugerencias, realizadas por el Comité Evaluador asignado. Por tal motivo, avalamos que el documento adjunto corresponde a la versión final del documento de Caso de Estudio.

Atentamente,

SINODALES

Dra. Ana Margarita Rodríguez Hernández
Presidente

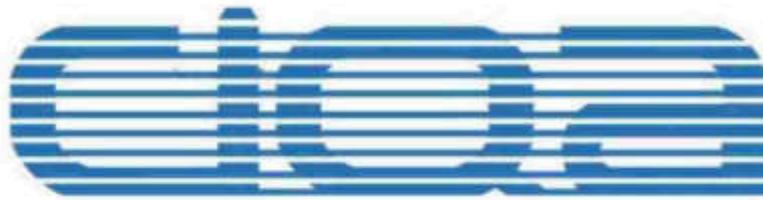
Dra. Ileana Vera Reyes
Vocal

Vo. Bo. de la Asesora

Dra. Alma Berenice Jasso Salcedo



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA



**AGRO-BIOPLÁSTICOS: METODOLOGÍAS DE EXTRACCIÓN Y
CUANTIFICACIÓN**

CASO DE ESTUDIO

PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:

ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

OPCIÓN: PLASTICULTURA

PRESENTA:

LAURA LIDIA HERNÁNDEZ BAUTISTA

SALTILLO, COAHUILA

MARZO, 2023

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA



**AGRO-BIOPLÁSTICOS: METODOLOGÍAS DE
EXTRACCIÓN, IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN**

CASO DE ESTUDIO

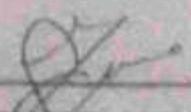
**PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL DIPLOMA
DE:**

**ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA APLICADA
OPCIÓN: AGROPLASTICULTURA**

PRESENTA:

LAURA LIDIA HERNÁNDEZ BAUTISTA

ASESORA:


DRA. ALMA BERENICE JASSO SALCEDO

SALTILLO, COAHUILA JUNIO 2023

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA



**AGRO-BIOPLÁSTICOS: METODOLOGÍAS DE EXTRACCIÓN,
IDENTIFICACIÓN Y CUANTIFICACIÓN**

CASO DE ESTUDIO

PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:

ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

OPCIÓN: AGROPLASTICULTURA

PRESENTA:

LAURA LIDIA HERNÁNDEZ BAUTISTA

EVALUADORES:

Dra. Ana Margarita Rodríguez Hernandez

Dra. Ileana Vera Reyes

SALTILLO, COAHUILA

JUNIO 2023

AGRADECIMIENTOS

Al consejo nacional de ciencia y tecnología (CONACyT) por haberme otorgado la beca y poder realizar la especialidad en química aplicada terminación Agroplasticultura.

Al centro de investigación en química aplicada (CIQA) y a cada uno de sus docentes que contribuyeron en mi formación por su tiempo y consejos.

A mi asesora la doctora Alma Berenice Jasso Salcedo por el tiempo, paciencia, consejo y sus palabras de aliento que me acompañaron el tiempo que duro este pequeño proyecto.

A mis hermanas Alelí, Ana, Leonor y Marisela por su apoyo incondicional durante este trayecto, a mi hijo Diego Said por ser lo más especial y bonito en mi vida que me da las fuerzas para ser mejor día con día.

A mis viejos amigos (Jesús Gaytán, Idaly, Estefanía Avilés) que, a pesar de la distancia, siempre están presentes con sus mensajes de ánimos, a mi nueva amiga compañera Maricarmen quien me ha acompañado en los momentos de desánimo.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi madre María Bautista Mayorga que en paz descanse, una mujer que su prioridad siempre fueron sus hijos, amó incondicionalmente a cada uno, le ruego a Dios que se encuentre en un lugar mejor y dichosa de paz, gracias mamá por todo lo que me enseñaste y que a pesar de todo me alentabas a seguir estudiando para obtener una mejor vida.

A mi hijo Diego Said Avilés Hernández que me ha acompañado siempre estos últimos 4 años de mi vida regalándome sonrisas, besos, llantos, que forman parte un amor puro que Dios me permitió tener.

A mis hermanas Leonor, Marisela, Modesta, Aleli y a mi hermano Carlos este trabajo también es de cada uno de ustedes, sin su apoyo yo no habría llegado hasta donde estoy el día de hoy.

RESUMEN

Los estudios de recuperación, identificación y cuantificación de agro-bioplásticos, entendidos como aquellos bioplásticos usados en el sector agrícola, son recientes y van en constante crecimiento después de que se evidenció la facilidad de acumulación en matrices complejas como el suelo agrícola y se volvieron aún más importante para la comunidad una vez que se dieron a conocer los trabajos sobre toxicidad en microorganismos, plantas, invertebrados y humanos a nivel mundial. En este caso de estudio se utilizaron las principales bases de datos científicas como Google Scholar, EBSCOhost, SciFinder y Science Direct para recabar información reciente sobre las metodologías de extracción, identificación y cuantificación de agro-bioplásticos de suelo. En cuanto a extracción se encontró que son necesarias metodologías con soluciones de alta densidad como CsCl y NaBr acopladas de un protocolo de purificación a base de reactivo Fenton a baja temperatura para eliminar restos de materia orgánica acumulada en los bioplásticos agrícolas durante su desintegración o biodegradación. Respecto a la identificación y cuantificación se encontró que la técnica de identificación visual de bioplásticos, incluso con la incorporación de tintes de alto costo, permite un gran margen de error por lo que debe complementarse con al menos un par de técnicas adicionales. La segunda más usada es la espectroscopia infrarroja ó IR en todas sus modalidades (ATR-FTIR, NIR, ó DL-IR). Los análisis térmicos acoplados a espectrometría de masas (TGA-MS, DCS-MS, Py-GC-MS) son comunes en la literatura para mezclas de agro-bioplásticos entre poli (ácido láctico) y tereftalato de adipato de polibutileno. Otras técnicas interesantes son las cromatografías (GPC y HPLC) para separación de fracciones de bioplásticos por tamaño y acoplarse posteriormente a las térmicas antes descritas o a la resonancia magnética nuclear (NMR). NMR aún es de difícil acceso en los centros de investigación por su alto costo de mantenimiento pero que ha mostrado excelentes resultados para la cuantificación sin interferencia de la materia orgánica. Todas las anteriores requieren de una biblioteca comparativa para la identificación y curvas de calibración para la cuantificación del bioplástico por lo que hay múltiples oportunidades de desarrollo de investigación. La literatura menciona nuevas formas de identificación y cuantificación a través de un diseño inteligente incorporando moléculas trazadoras a los bioplásticos e incluso con espectroscopía de

impedancia eléctrica que aún se encuentra en etapa de pruebas y debería implementarse en un futuro a escala industrial.

Finalmente, este caso de estudio contiene un directorio de investigadores de CIQA y otros a nivel internacional que trabajan con bioplásticos y dominan las técnicas de identificación y cuantificación para ser considerados potenciales colaboradores en este tipo de estudios.

ABSTRACT

Studies on the recovery, identification and quantification of agro-bioplastics, a term used for the bioplastics used in agriculture, are growing in number in the literature after it was evidenced an accumulation of bioplastics in complex matrices such as agricultural soil. The studies were even more relevant once the results of studies on toxicity in microorganisms, plants, invertebrates and humans became known worldwide. Scientific databases such as Google Scholar, EBSCOhost, SciFinder, and Science Direct were used to gather recent information on methodologies of extraction, identification and quantification of bioplastics on soil samples. It was found that high density solutions such as CsCl and NaBr coupled with a purification protocol based on Fenton's reagent at low temperature are necessary to eliminate traces of organic matter accumulated in agricultural bioplastics during their disintegration or biodegradation. Furthermore, we found that the technique of visual identification of bioplastics, even with the incorporation of high-cost dyes, allows a large margin of error, so it must be complemented with at least a couple of additional techniques. A second in popularity is IR spectroscopy in all its modalities (ATR-FTIR, NIR, or DL-IR). The thermal analyzes coupled with mass spectrometry (TGA-MS, DCS-MS, Py-GC-MS) are third place, especially for mixtures of agro-bioplastics between poly (lactic acid) and polybutylene adipate terephthalate. Other interesting technique is chromatography (GPC and HPLC) used for separation of bioplastic by size and then coupled with GC-MS or nuclear magnetic resonance (NMR). NMR in Mexico is still difficult to access due to its high maintenance cost, but it has shown excellent results for quantification without organic matter interference. All of the above require a library for the identification and calibration curves for the quantification of the bioplastic, so there are multiple opportunities for research in this field. The literature mentions new forms of identification and quantification through intelligent design incorporating tracer molecules and even with electrochemical impedance spectroscopy that is still in the testing phase with conventional plastics.

Finally, this document contains a directory of CIQA researchers and others abroad working with bioplastics identification and quantification techniques to be considered as potential collaborators.

ÍNDICE

I. Introducción	13
II. Estado del arte (Revisión de literatura)	14
II. 1. Bioplásticos	14
II.2. Bioplásticos encontrados en agricultura (composta, suelo o matrices complejas).	17
II.2.1 Propiedades intensivas de los bioplásticos empleados en la agricultura.	18
III. Justificación	19
IV. Hipótesis	20
V. Objetivos	20
V.1 Objetivo general	20
V.2 Objetivos específicos	20
VI. Áreas de Oportunidad	21
VI.1 Técnicas de extracción	22
VI.1.1 Suelo	23
VI.1.2 Recolección	23
VI.1.3 Purificación	24
VI.1.4 Separación	24
VI.2 Tejido vegetal	25
VI.3 Técnicas de identificación	26
VI.3.1 Microscopía (forma y tamaño)	27
VI.3.2 Espectroscopia infrarroja (FTIR y NIR)	27
VI.3.3 Análisis térmicos y espectrometría de masas (TGA y DCS/ MS)	29
VI.3.4 Cromatografía por exclusión de tamaño y espectrometría de masas (SEC y MS)	30
VI.4 Técnicas de cuantificación	31

VI.4.1 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	31
VI.4.2 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (NMR)	32
VI.5 Uso de otras moléculas trazadoras	33
VI.6 Uso de impedancia espectroscópica	33
VII. Directorio	34
VIII.1 Preguntas de entrevista a investigadores trabajando en bioplásticos	34
VIII.2 Extranjeros	35
VIII.3 Nacionales	36
VIII. Conclusiones	37
IX. Perspectivas	38
X. Nomenclatura	38
XI. Referencias	40
XII. ANEXOS	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Tipos de bioplásticos aplicados en la agricultura.	16
Tabla 2: Propiedades químicas y térmicas útiles para la implementación de las técnicas de extracción, identificación y cuantificación.	18
Tabla 3: Contactos extranjeros relacionados con las técnicas de extracción, identificación y cuantificación de bioplásticos.	35
Tabla 4: Catedráticos e investigadores del CIQA, relacionados con las técnicas de identificación y cuantificación de bioplásticos mencionados en este caso de estudio.	36
Tabla 5: Ventajas y desventajas de las técnicas de extracción, identificación y cuantificación de bioplásticos.	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Clasificación de los diferentes tipos de plásticos convencionales y bioplásticos según su origen y biodegradabilidad.	15
Figura 2: Artículos publicados en los buscadores EBSCOhost, Scifinder y Science Direct, contemplando las palabras claves “bioplastics”, “identification”, “microplastics” or “detection”, “microplastic” and “soil”.	22
Figura 3: Imágenes de espectros de bioplásticos y combinación de ellos: PCL, PLA/PHB, PBAT, PLA y PBS.	29

I. INTRODUCCIÓN

La generación de múltiples accesorios plásticos han provocado contaminación que ha interferido en la calidez de vida de cada ser vivo en el planeta, estudios señalan que los plásticos se encuentran esparcidos por todo el mundo en diminutas partículas denominadas microplásticos (MP) y nanoplásticos (NP); la agricultura en el 2018 represento el 4% del producto interno bruto (PIB) del país, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) nos dice que para otros países puede alcanzar hasta un 25% del PIB, ahora si consideramos al suelo como el medio donde estos residuos plásticos quedan contenidos hasta perderse en forma de MP y NP; tomando en cuenta las estadísticas significa que los suelos agrícolas son afectados directamente por este tipo de contaminación, dentro de las prácticas agrícolas para mejorar la producción se encuentra el acolchado de suelos por sus múltiples beneficios desde evitar el crecimiento de malezas, ahorro significativo del consumo del agua, por lo que su uso seguirá en continuidad, la vida útil de las películas para acolchado normalmente está contemplada con la fase fenológica del cultivo, por lo que cada cosecha implica un cambio de acolchado, debido a la impráctico que es retirarlo queda pensar en la acumulación de estos en el suelo generando así contaminación, esta no es la única fuente de MP, sin embargo, hay otras fuentes indirectas menos obvias por ejemplo las relacionadas con mejoradores de suelo que incluyen la incorporación de compost o lodos provenientes de plantas de aguas residuales contaminados con MP (Mo et al., 2023a). Sucede lo mismo al implementar acolchado de suelos provenientes de bioplásticos los cuales se han detectado en el ambiente (L. Wang et al., 2022).

Recientemente ha crecido el interés por estudiar el efecto de MP y NP sobre las propiedades fisicoquímicas del suelo y por ende el efecto colateral hacia el microbioma del suelo, si hacemos uso de la relación suelo-planta, puede asumirse que estas partículas generaran un efecto en las especies vegetales desarrolladas allí, incluso se están promoviendo estándares y normas para regularlos. El reto está en adaptar las metodologías en extracción, identificación y cuantificación usadas en plásticos convencionales al área de los MP y NP de bioplástico, e incluso crear nuevas metodologías

para aquellos bioplásticos embebidos en matrices complejas como lo es el suelo agrícola, lo que denominamos agro-bioplásticos.

Por lo anterior mencionado el presente caso de estudio reúne las técnicas para extracción, identificación y cuantificación de bioplásticos que se han empleado para acolchado y otras aplicaciones en la agricultura (PLA, PBS, PBAT, PHB y PCL), comparando las técnicas que se han empleado para los plásticos tradicionales (por ejemplo PP, PE y PVC), se llega a la conclusión de que existen una gran desinformación en cuanto la contaminación del suelo por MP de tipo bioplástico y es necesario comenzar a profundizar en determinar las concentraciones y origen de los MP en el suelo con el fin de predecir los efectos en especies vegetales y otras en la cadena trófica.

II. ESTADO DEL ARTE (REVISIÓN DE LITERATURA)

II. 1. Bioplásticos

Consultando la definición de la página European Bioplastics (European Bioplastics e.V., 2022) nos dice que un bioplástico está compuesto a base de un material biológico, biodegradable e incluso constituirse de ambos. Así mismo un material biobasado es aquel que se obtiene de alguna fuente natural renovable, y este puede ser biodegradable si tiene la capacidad de desintegrarse en el medio ambiente en un cierto periodo de tiempo. De modo que un bioplástico puede no ser biodegradable según las definiciones por lo que se aprecia en la figura 1. Para mayor comprensión hemos tomado como referencia la clasificación de (Ali et al., 2022) en la que distingue inicialmente entre plásticos convencionales y los bioplásticos, los bioplásticos a su vez son obtenidos de fuentes fósiles y biológicas los cuales pueden ser o no biodegradables.

Para este caso de estudio los bioplásticos de interés son aquellos que se han obtenido de fuentes naturales y a su vez son biodegradables mismos que se encuentran en el recuadro verde y anaranjado de la figura 1, sobresalen por su uso en agricultura el ácido poliláctico (PLA), los polihroxicalatos (PHAs) y poli succinatos los cuales más adelante se irán abordando.

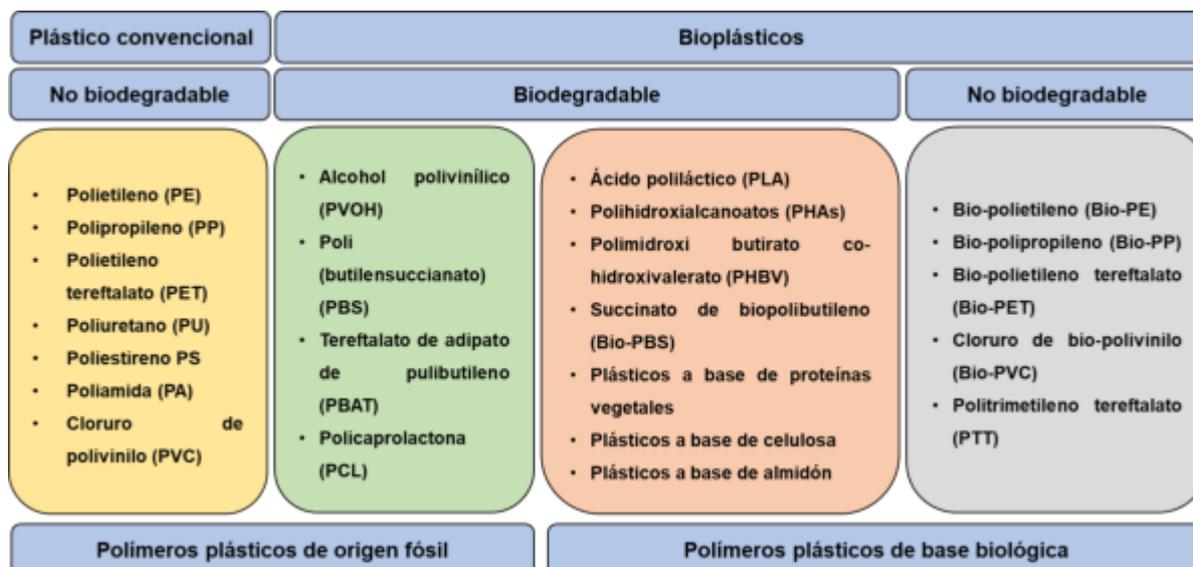


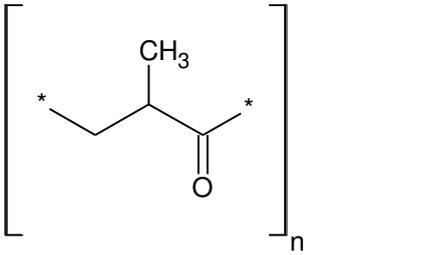
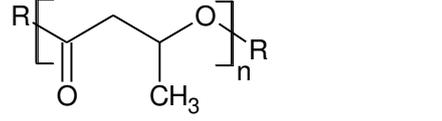
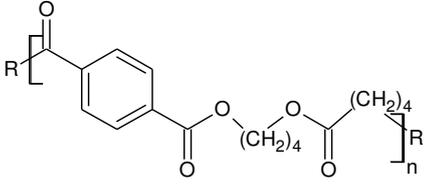
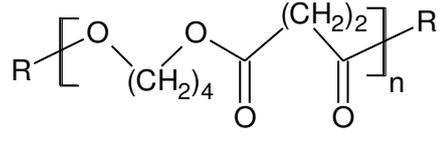
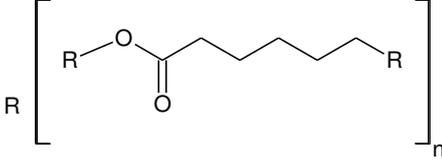
Figura 1: Clasificación de los diferentes tipos de plásticos convencionales y bioplásticos según su origen y biodegradabilidad.

Nota: Estos datos fueron adaptados de (Ali et al., 2022).

En la tabla 1 se muestran algunos de los bioplásticos base biológica biodegradables que se han empleado en la agricultura, en los últimos 10 años, y por lo que se observa se han empleado para acolchado de suelos, tuberías de riego, cubiertas de invernadero, empaque de insumos de agroquímicos y materiales de liberación sostenida (Mansoor et al., 2022; Mo et al., 2023b). Si bien todas estas aplicaciones tienen un contacto con el suelo, se dice que estos materiales son compostables e incluso se ha estudiado el tiempo que tardan en desintegrarse en suelo, pero se carece de información sobre las sustancias o productos finales liberados en el suelo. Es necesario conocer la cantidad y naturaleza química de estas sustancias para tener un panorama más claro el modo de afectación al propio suelo y al cultivo en crecimiento. Sin embargo, todo se vuelve complejo por la gran variedad de bioplásticos y aditivos existentes en el mercado, además de que comúnmente en las aplicaciones se usan multicapas de bioplásticos para mejorar el rendimiento mecánico.

En las siguientes secciones nos enfocaremos en los cinco tipos de bioplásticos usados en agricultura los cuales pueden apreciarse en la tabla 1 y en resaltar las características que les permitirían ser diferenciados de otros.

Tabla 1: Tipos de bioplásticos aplicados en la agricultura.

Materiales	Fórmula estructural	Aplicación en la agricultura
Ácido poliláctico (PLA)		Acolchado agrícola, paquete, tuberías de riego por goteo y túneles de invernadero.
Poli (3-hidroxi-3-butirato) (PHB)		Acolchado agrícola, paquete y bioportadores en la liberación lenta de fertilizantes.
Tereftalato de adipato de pulibutileno (PBAT)		Paquete y acolchado agrícola, sistema de liberación lenta (fertilizantes, fungicidas) a través del acolchado.
Poli (butilensuccinato) (PBS)		Abono agrícola, materiales de paquete, pesticidas y fertilizantes de liberación sostenida.
Poli (ε-caprolactona) (PCL)		Control de gases postcosecha, películas de empaque.

Nota. Estos datos fueron adaptados de (Mo et al., 2023b) y (Mansoor et al., 2022) muestran que casi totalmente los bioplásticos pueden desplazar los plásticos convencionales en la agricultura.

II.2. Bioplásticos encontrados en agricultura (composta, suelo o matrices complejas).

Los acolchados agrícolas son una técnica utilizada para reducir la evaporación del agua, mantener la temperatura del suelo y evitar el crecimiento de malezas y obtener un mayor rendimiento en los cultivos. Debido a la problemática ambiental se han implementado películas plásticas biodegradables para la fabricación de acolchados biodegradables los cuales se agrupan como polisacáridos, poliésteres alifáticos y aromáticos. Los acolchados biodegradables tienen que presentar enlaces hidrolizables entre cada monómero, y al ser liberados en el suelo los microorganismos puedan usarlos como fuente de energía para sobrevivir. Se sabe que esa biodegradación de los bioplásticos puede dar lugar a fracciones solubles e insolubles resultado de la ruptura de enlaces hidrolizables (Mo et al., 2023a). En la fracción insoluble encontrada en el suelo se encuentran las partículas bioplásticas que según el tamaño de la partícula se clasifican en 4 tipos: mesoplásticos, macroplásticos, microplásticos y nanoplásticos (Lwanga et al., 2023), que para fines prácticos los englobaremos en el término microplástico o abreviado MP. De manera convencional las dimensiones de un MP son entre 1 y 5 mm (Bibi et al., 2023; de Souza Machado et al., 2017; Sun et al., 2023) y en cuanto a la fracción soluble podemos considerar a los aditivos del tipo plastificantes (Cui et al., 2020) aceleradores de degradación, compatibilizantes, etc. (Hahladakis et al., 2018); los cuales también han sido encontrados acumulados en suelo.

En el estudio de Lwanga y colaboradores encontraron acolchados bioplásticos en uno de los tres sitios de muestreo correspondientes a suelos agrícolas al sur de los Países Bajos en cantidades de entre 4 y 53 piezas por gramo con dimensiones máximas de 500 μm (Lwanga et al., 2023). Los autores identificaron tres tipos de bioplásticos en el sitio: furanoato de polietileno (PEF), películas multicapa de polietileno con almidón, y una mezcla de biobasado y convencional. La presencia de PEF se correlaciona con el recientemente anunció sobre el inicio de la producción masiva de éste bioplástico al norte del mismo país (Alfolödy, 2022) por lo que podría esperarse un incremento en su uso en el sector agrícola y por ende su acumulación. Los autores también mencionaron que el sitio ha utilizado acolchado para cultivo de betabel por al menos 5 años de manera que en tan corto tiempo ya se pueden acumular, detectar y cuantificar bioplásticos residuales en el suelo agrícola. Lo mismo ocurre con bioplástico basado en PLA en un lapso de 2 años

según las observaciones de (Zhao et al., 2021). Los autores siguieron la biodegradación de películas bioplásticas en suelo agrícola donde se cultivó maíz y encontraron un incremento de hasta 70% en la cantidad de fragmentos residuales por gramo de suelo con dimensiones mayores a 4 mm y además la presencia de dichas partículas afectaron negativamente la estructura del suelo.

II.2.1 Propiedades intensivas de los bioplásticos empleados en la agricultura.

A manera de antecedentes describiremos las propiedades intensivas, específicamente, las propiedades de nuestro interés para el caso de estudio son la temperatura de transición vítrea (determinada por TGA), temperatura de punto de fusión (determinada por DSC) y la densidad que se mantiene constantes en los bioplásticos más comunes empleados en actividades agrícolas.

Tabla 2: Propiedades químicas y térmicas útiles para la implementación de las técnicas de extracción, identificación y cuantificación.

	Técnica Cuantificación	Técnica Extracción			
Biopolímero	Densidad g/cm ³	Temperatura de transición vítrea (Tg)	Punto de fusión (Tm)	Ejemplo de mezcla - ejemplo de proveedor	Referencia
Poli (butilensuccinato) (PBS)	1.26	-45 a -10 ° C	90- 120 ° C	PBS mezcla con PLA- (Showa Denko Europe)	(1)
Poli (ε-caprolactona) (PCL)	1.145 - 1.2	-60	58-65.1	PCL mezcla con almidón- (Novamont)	(2)
Poli (3-hidroxi-3-butirato) (PHB)	1.18 - 1.26	-1 ° C	179 ° C	Mezcla con PLA- TianAn Biologic	(3)

				Materials Ltd	
Poli (ácido láctico) (PLA)	1.21 – 1.25	60 -65	150 -162	Mezcla con PBAT, almidón (BASF, Nature Works)	(4)
Tereftalato de adipato de polibutileno (PBAT)	1.18 – 1.3	-28	100- 120	Mezcla con PLA, PPC y/o almidón (BASF, Cortec Corporation)	(5)
Materia orgánica	0.5 a 0.8				(6)

(1)(Li et al., 2021a); (2) (Tamayo-Belda et al., 2022); (3) (Fojt et al., 2020); (4) (Ainali et al., 2022; Li et al., 2021a; NatureWorks, n.d.); (5)(Li et al., 2021a); (6) (S. Zhang et al., 2018).

III. JUSTIFICACIÓN

La contaminación plástica ha tomado vital importancia, día con día se generan cantidades enormes de materiales plásticos que hacen practica la vida del ser humano. Sin embargo, la comodidad que estos materiales nos proporciona a nublado nuestra percepción del destino final que estos deben tener, con el paso de los años lentamente se han adaptado materiales oxo-biodegradables y biodegradables que disminuyen el impacto hacia el medio ambiente cuando estos comienzan a degradarse en un medio vivo. Dentro de las actividades consideradas como vectores de contaminación bioplástica consideramos la agricultura en la cual por el manejo que cada cultivos requiere se opta por acolchados de suelos, cubiertas plásticas (micro y maro túneles, invernaderos, malla sombra y casa sombra) , agroquímicos los cuales por el mal manejo de residuos generan contaminación, por lo que en este caso de estudio nos enfocaremos sobre las técnicas de extracción, identificación y cuantificación de partículas micrométricas de bioplásticos empleados en

la agricultura donde contemplamos 5 tipos de bioplásticos: PLA, PBAT, PHB, PBS Y PCL. Debido a lo impráctico que es retirar principalmente el acolchado del suelo, los bioplásticos mencionados en teoría se degradaría con mayor rapidez en el suelo, sin embargo, numerosos estudios señalan que durante el proceso de degradación afecta la flora microbiana del suelo e interfieren con las propiedades físico químicas del suelo.

Si bien las técnicas que se han empleado para plásticos convencionales no funcionan del todo bien para bioplásticos esto desde el proceso de separación puesto que las densidades oscilan de 1.18 a 1.3 g/cm³ comparada con la densidad de polietileno de 0.92 g/cm³ y PVC que va de 1.29 a 1.44 g/cm³. Considerando una muestra de suelo contaminada los protocolos que se han seguido coinciden en la dificultad para separar la materia orgánica, así como las partículas del suelo de las bioplásticas, por estas circunstancias las técnicas están en pleno desarrollo.

IV. HIPÓTESIS

La búsqueda de información en bases de datos científicas como Google Scholar, SciFinder, EBSCOhost y Science Direct de los últimos 5 años permitirá la documentación en español sobre el avance en técnicas y protocolos de extracción cualitativa y cuantitativa de bioplásticos que se encuentran en matrices complejas que pueden ser aplicadas al estudio de los agro-bioplásticos por parte de investigadores y empresarios del sector agrícola.

V. OBJETIVOS

V.1 Objetivo general

Divulgar el estado del arte de los últimos 5 años sobre técnicas de extracción, identificación y análisis cuantitativo de bioplásticos en sistemas agrícolas.

V.2 Objetivos específicos

- Conocer las técnicas de extracción de bioplástico(s) en sistemas agrícolas.
- Documentar el avance y limitaciones de las técnicas de análisis de agro-bioplásticos.

- Generar un directorio de investigadores con experiencia e instituciones con infraestructura para el análisis cualitativo y cuantitativo de bioplásticos.

VI. ÁREAS DE OPORTUNIDAD

Los bioplásticos son una alternativa para sustituir los plásticos convencionales, sin embargo, en cuestiones de reciclaje nuestro país ha planteado alternativas que normalmente se quedan establecidas en papel y pocas se llevan a cabo, se desconoce el motivo quizás por falta de recursos, falta de cultura, por la cuestión que sea la contaminación que causan estos materiales al degradarse ha impactado fuertemente al suelo y al agua, ambas matrices ambientales contaminadas que son fundamentales para la producción de alimentos. Ahora bien en la agricultura las películas plásticas que frecuentemente se usan son los acolchados plásticos, así como cubiertas plásticas para invernaderos o mallas sombras, después de la vida útil de estas partículas el manejo que reciben es mínimo, en peores casos nulo, por lo mencionado en este caso de estudio se pretende recabar información de los últimos 5 años contemplando extracción cualitativa y cuantitativa para agro-bioplásticos, consultando en Google scholar, EBSCOhost, SciFinder y Science Direct usando términos como “bioplásticos”, “identificación de microplásticos en suelo”, “bioplásticos en la agricultura” todos los términos en inglés, sin embargo por ser un tema poco reciente la información consultada será relativamente poca.

Contemplando los artículos publicados desde el 2018 al 2023 que se observan en la figura 2 de acuerdo al buscador EBSCOhost cuenta con un total de 23 artículos, Science Direct con 117 artículos, SciFinder con 4 artículos, Google scholar con el valor más alto de 4,350, sin embargo, considerando los buscadores SciFinder y EBSCOhost de 2022 al 2023 solo se encuentran 2 artículos en cada navegador, por esto se considera un área de oportunidad para nuestro caso de estudio.

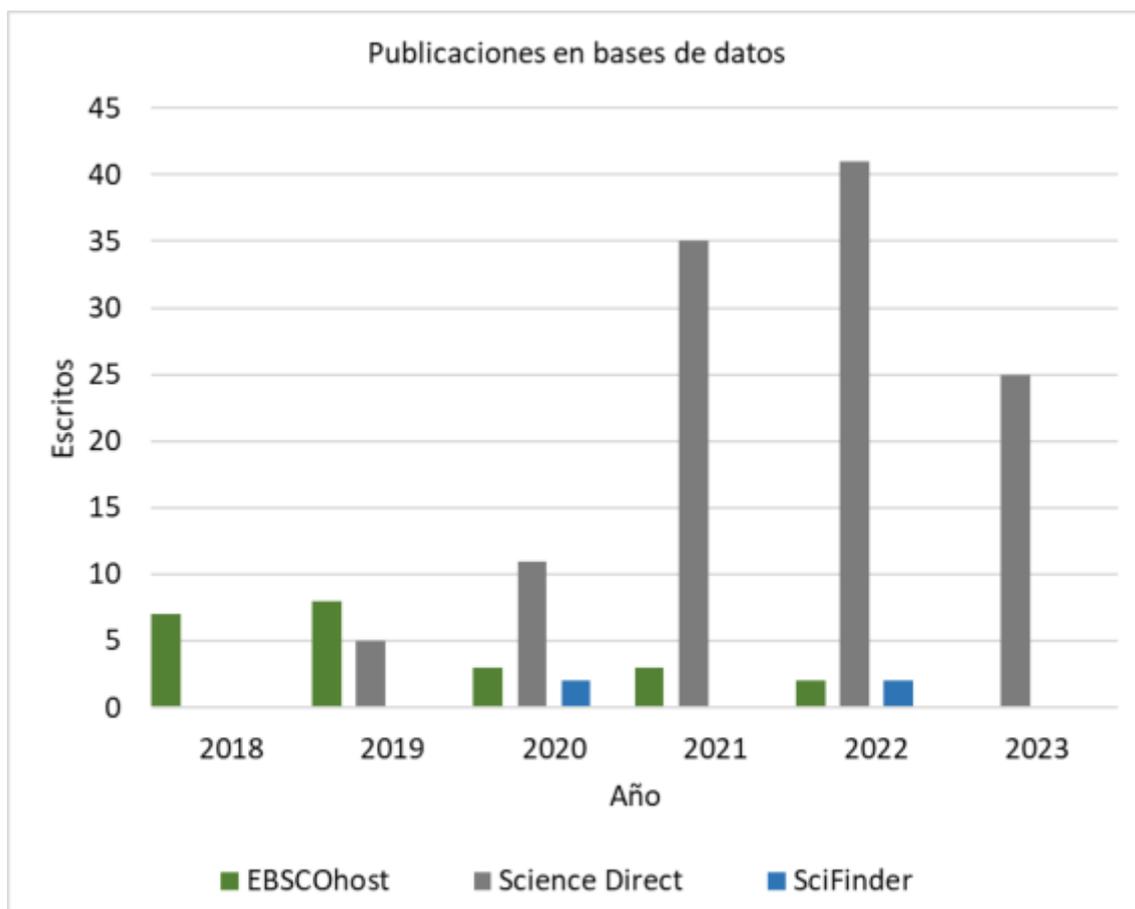


Figura 2: Artículos publicados en los buscadores EBSCOhost, Scifinder y Science Direct, contemplando las palabras claves “bioplastics”, “identification”, “microplastics” or “detection”, “microplastic” and “soil”.

A continuación, se presentan las áreas de oportunidad dividida en secciones relacionadas con los bioplásticos que se han empleado en la agricultura y su capacidad de degradación, la mayoría de los estudios son a nivel laboratorio en donde se contamina una muestra de suelo con MP o bien se introducen MP dentro de una composta y de esta manera evaluar el porcentaje de degradación y recuperación en periodos de tiempos que van de 1 a 6 meses. Fue un reto encontrar información puntual relacionada con las técnicas de extracción, identificación y cuantificación de bioplásticos, para las cuales se consultaron términos relacionados con la toma y manipulación de muestras de suelo, concentración de MP en tejido vegetal, contaminación del suelo por ácido poliláctico, cuantificación de bioplásticos en suelo mediante FTIR, TGA, MS, NMR.

VI.1 Técnicas de extracción

Los microplásticos normalmente los tomaban en cuenta debido a que se le considera una fuente primaria de contaminación para los mares, hoy en día se han detenido a observar

que el hecho de que la mayoría de los residuos plásticos se encuentra depositados en vertederos terrestres, el suelo es un medio donde se encuentran contenidas grandes cantidades de MP de todo tipo. Ahora bien, haciendo un enfoque sobre suelo agrícola se pueden identificar diferentes fuentes desde la producción de cultivos que emplean acolchados plásticos, o bien plásticos para las cubiertas de invernadero, macro y microtúneles, mallas sombra, incluso los frutos son recubiertos con polímeros comestibles.

Si bien para conocer el tipo y la cantidad del bioplástico que se está acumulando principalmente en el suelo agrícola se han empleado ciertas técnicas para caracterizar y cuantificar los MP de origen sintético de fuentes fósiles (Liu et al., 2019; Yu et al., 2021), en este caso de estudio se pretende resaltar solo aquellas técnicas empleadas para los plásticos biodegradables que se han utilizado en la agricultura.

VI.1.1 Suelo

En el suelo la contaminación por MP es un tanto difícil de estimar debido a que es una matriz compleja en la cual se encuentran contenidos microorganismos vivos los cuales interactúan con estos MP, así también la materia orgánica por su textura se adhiere con facilidad a estas diminutas partículas, por lo que dificulta su extracción, o bien los nutrientes quizás pueden reaccionar con los aditivos desprendidos de estas películas bioplásticas. Según un número limitado de estudios nos dicen que en los ecosistemas terrestres las estimaciones en cuanto concentración podría ser de 4 a 23 veces mayor que la cantidad mayor en ecosistemas acuáticos (de Souza Machado et al., 2017). En las siguientes secciones se mencionan los protocolos para recolección, purificación y separación del suelo.

VI.1.2 Recolección

Si bien para tomar las muestras en campo existe la norma ISO 18400-102:2017, la cual brinda técnicas y pautas guiadas para realizar un muestreo de suelo agrícolas y suelos contaminados, hace mención del tipo de equipos que permiten obtener una muestra representativa del lote, haciendo uso de distintos métodos de muestreo por ejemplo un muestreo aleatorio estratificado o un muestreo aleatorio simple, esto va a depender del tamaño del área, es fundamental considerar la profundidad de muestreo de acuerdo al

tipo de suelo, puesto que en suelos arenosos sea posible más fácilmente que las partículas de microplásticas puedan ser arrastradas por agua infiltrada, y por el contrario en suelos más finos con presencia de arcillas estas pueden adherirse a las partículas y retenerlas a una profundidad pequeña (Lwanga et al., 2022), o bien si se trata de un suelo agrícola considerar la profundidad de raíz que se han trabajado del cultivo anterior.

Para el resguardo de las muestras es importante considerar tomar y reservar las muestras en contenedor que no sean de plástico o bioplástico para evitar la contaminación cruzada (Praveena et al., 2022), por ejemplo, cristal o papel aluminio.

VI.1.3 Purificación

A la muestra que se le desea analizar los microplásticos una vez secado y tamizado es necesario eliminar el contenido de materia orgánica del suelo (MOS) que se encuentre adherida a la micropartículas de plástico, si bien ciertos autores recomiendan emplear los reactivos más comunes (H_2O_2 30 %, HNO_3 65 %, NaOH 50 %, H_2SO_4 96 %, KClO 13 %) con el fin de eliminar la fracción de MOS, se encontró que el HNO_3 al 65% reacciona con algunos bioplásticos cuando se calienta a 90 °C (Yang et al., 2021), entonces es subestimando el contenido de los mismos en la muestra. Por ejemplo, la temperatura de fusión de los bioplásticos PBS y PCL es de 90 y 58 °C respectivamente de acuerdo a tabla 2, por lo tanto puede provocar la descomposición de éstos, el reactivo que comúnmente se ha utilizado para eliminar la MOS es peróxido de hidrogeno H_2O_2 , (Z. Wang et al., 2018) nos dice que una mezcla de H_2O_2 con un ion ferroso (Fe^{2+}) denominado reactivo de Fenton resulto útil para suprimir la MOS sin afectar al plástico, corroborando la anterior (Möller et al., 2022) probó tres protocolos de purificación, uno de ellos empleo el reactivo Fenton que tuvo buenos resultados para plásticos comunes; pero la reacción exotérmica afectó la estabilidad del bioplástico PLA. Lo recomendable para PLA es usar solución Fenton a bajas temperaturas con baño de hielo como lo reportado por (Al-Azzawi et al., 2020).

VI.1.4 Separación

Se le conoce como extracción a cualquier método utilizado para separar microplásticos contenidos en un medio natural, una vez que la muestra a analizar haya pasado por el paso purificación lo siguiente es separar los MP de la muestra de suelo, para esto se han empleado métodos de extracción por densidades. En mayoría los bioplásticos tienen

densidades mayores a la del agua, por lo tanto, se descarta el agua como medio a utilizar, pese a esto se han empleado ciertas soluciones principalmente salinas en promedio con densidades que van de 1.2 a 1.5 (g/cm³). Las soluciones más recomendadas para la separación de partículas bioplásticas son cloruro de sodio (NaCl, 1.2 g/cm³), cloruro de calcio (CaCl₂, 1.5 g/cm³), cloruro de zinc (ZnCl₂, 1.6 g/cm³) y yoduro de sodio (NaI, 1.8 g/cm³) (Yang et al., 2021). En un caso particular se evaluaron diferentes sales para separar MP de PE, PET y PBAT de partículas minerales del suelo, la solución que se utilizó y mostro buenos resultados fue el CsCl con 1.5 g/cm³ y posterior se aplicó centrifugación isopícnica con la finalidad de romper los aglomerados que pudieran formarse (Jakobs et al., 2023). Para bioplásticos (PLA y PBAT) la solución que recomiendan los autores (Li et al., 2021b) es bromuro de sodio (NaBr de 3.21 g/cm³) a diferentes tamaño de partícula de 100 a 1000 nm, menciona que es relativamente más barato que otras sales e incluso puede reciclarse al menos 5 veces, con una recuperación promedio del 95 % del material bioplástico.

VI.2 Tejido vegetal

Respeto a la cantidad de MP en los cultivos agrícolas es aún incierto, lo que se asegura es que las plantas tienen cierta afinidad de extraer estas partículas del suelo, hasta cierto punto esto es de esperarse pues existen plantas que se usan para extraer metales pesados, queda pesar que existen plantas que pueden tener mayor o menor afinidad por los MP; sin embargo, existe muy poca información respecto a esto. Varios autores (He et al., 2022; Zhou et al., 2020) coinciden en la interacción que se da en el sistema suelo-planta, así mismo se desconocen técnicas que se puedan emplear para cuantificar en este caso bioplásticos en las plantas pero principalmente en frutas y verduras estos datos impactarían principalmente a la población que los consuma, dejando de un lado a los animales que pueden ser alimentados con pastura contaminada y finalmente llegar al consumidor. Los estudios de extracción de plásticos en matrices vivas ha sido enfocada en invertebrados (Lusher et al., 2017) y podrían en un futuro adaptarse a plantas. En un caso específico para bioplásticos el artículo que se consultó pretende la biorremediación de suelos contaminados con MP mediante lombrices expuestas a suelos con diferentes concentraciones de LDPE, PLA y PBAT. Para la identificación, las muestras se extrajeron y con agua destilada se lavaron impurezas pequeñas y posterior con una solución de

dihidrogenofostato de sodio (NaH_2PO_4) con una densidad 1.28 g/cm^3 (Meng et al., 2023) se hizo la separación de bioplásticos.

La literatura consultada en cuanto al análisis de microplásticos en tejido vegetal ha sido enfocada en observación de MP en las estructuras vegetales completas (Bosker et al., 2019) y utilizando líneas celulares modelo para observación en protoplastos (Bandmann et al., 2012). Bosker evaluó la germinación de semillas expuestas a concentraciones de microplásticos fluorescentes de 50 a 500 nm, dentro de sus variables concluyo que la concentración de MPs no influyó en la germinación de la semilla. Mediante microscopía estas partículas fluorescentes mediante imágenes se observaron adheridas a la testa de la semilla, al germinar la semilla se notó la acumulación de MPs alrededor de los pelos radicales por los cuales las plantas captan agua y nutrientes fundamentales para su crecimiento. Cabe resaltar que la técnica mencionada de microscopía de fluorescencia no permite la cuantificación o identificación química del plástico. Lo anterior indica un área de oportunidad para técnicas de cuantificación de plásticos específicas en tejidos vegetales.

VI.3 Técnicas de identificación

Como siguiente paso después de separar las partículas bioplásticas del suelo como estas pueden ser de diferentes tamaños, formas, colores, principalmente diferente grupo químico, si conocemos el origen de la película bioplástica que se empleó en un suelo agrícola nos facilitaría el trabajo de identificación, pero existe la seguridad que ese suelo en un pasado fue cubierto con un plástico convencional lo que hará más compleja la identificación; en la agricultura para acolchado de suelos comúnmente se usan poliolefinas, por lo tanto las técnicas se prueban tanto en bioplásticos y plásticos convencionales, en los estudios se coincide lo complejo que emplear solo una técnica por ello se han empleado dos o más para obtener información más completa. Dentro de los estudios que se han consultado la identificación visual de bioplásticos ha sido mediante microscopía principalmente estereoscopio acoplados con cámara como lo menciona (Mangala et al., 2022), sin embargo el margen de error puede ser bastante grande, en estos casos es necesario complementar con técnicas más específicas por ejemplo espectroscopía FTIR, NMR, TGA, MS las cuales más adelante se describen.

VI.3.1 Microscopía (forma y tamaño)

A manera de facilitar el análisis visual de un bioplástico se han empleado tintes para la tinción necesarios en la extracción, identificación y cuantificación de estas partículas, descripción de su forma y tamaño. El costo de los tintes tomados de la página Sigma Aldrich para Nile Red 100 mg con un costo de \$3,099, Nile blue A de 25 gr con un costo de \$2,830; los tintes que se han probado en bioplásticos los precios oscilan para Lipid Green 1 para 5 mg con un valor de \$3, 788, Bodipy 493/503 para 500 mg con un costo de \$5,846.

Por ejemplo (Cao et al., 2022) identifico PHAs mediante técnicas de fluorescencia usando fluorocromos nombrados como Lipid Green 1, Bodipy 493/503 mostraron más tiempo de tinción para las partículas de PHB, este en comparación con Nile red y Nile blue A, estos tintes se han empleado para identificar PET, PP, PE como lo hicieron (J. Zhang et al., 2022) y (Thomas et al., 2020). En otro estudio (Primard et al., 2010) empleo partículas de PLA fluorescentes, donde se activa la fluorescencia a cierta temperatura, sin embargo esto solo es útil si conociéramos el origen de las partículas, en cambio sí lo ignoramos forzosamente tenemos que emplear un colorante. Además, es necesario estudios con múltiples bioplásticos para verificar las limitaciones de la técnica.

VI.3.2 Espectroscopia infrarroja (FTIR y NIR)

FTIR es una de las técnicas para reconocer microplásticos de hasta 10 μm (Bibi et al., 2023) con diminutas diferencias de composición química al tener una región de huella digital y comparar los resultados con una biblioteca integrada para esta región (Hendrickson et al., 2018; Tammina et al., 2023). Esta técnica implica que previamente se aplicó un procedimiento para el desprendimiento y separación de las partículas de bioplástico de la matriz del suelo las cuales suelen ser >20 y >0.5 μm (Bibi et al., 2023), por lo tanto esto sería una limitante para el método FTIR. Una variante de esta técnica es la acoplada a microscopía conocida como método láser infrarrojo directo (LD-IR) donde se puede realizar análisis químico e imagen de partículas con resolución 10 μm .

En un estudio de autor Zhu y colaboradores se identificó 17 tipos de microplásticos en la placenta humana mediante el método de láser infrarrojo directo LD-IR, empleado

microesferas fluorescentes incluido el Nile Red, los plásticos identificados de mayor presencia fue el PVC, seguido del PE y en un tercer lugar el PBS, con estos datos es alarmante imaginar el grado al que estamos expuestos ya que nos desarrollamos en un medio donde reinan los plásticos (Zhu et al., 2023).

La metodología empleada para analizar muestras que contienen bioplásticos en éstas son preparadas o bien pretratadas (percolación, separación de densidades) y posteriormente ser analizadas mediante FTIR – NIR, se sabe que más de un 70% de partículas que se parecen a los microplásticos en realidad no lo son una vez que son analizadas mediante esta técnica (Hidalgo-Ruz et al., 2022).

En un artículo escrito por Bao y colaboradores se enfoca en la degradación de hilos de telas de PLA con PHB expuestos a diferentes condiciones de forma paralela, las muestras colectadas después del tiempo de observación se identificaron mediante ATR-IR, si bien las condiciones mediante las cuales se generaron los espectros donde la reflexión interna se generó en un ángulo de incidencia a 45° , número de onda de 4000 cm^{-1} a 650 cm^{-1} , y así mismo se generaron 32 escaneos a una resolución de 4 cm^{-1} en un promedio (Bao et al., 2022). En el mismo estudio se requirió de una técnica complementaria para correlacionar el grado de degradación de los bioplásticos con su temperatura de cristalización, estas se analizaron mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), en donde las muestras y la referencia se calentaron (60 a 200°C) en una atmósfera nitrógeno. De modo que, dependiendo del objetivo del estudio en bioplásticos, la complejidad de la muestra, etc., es recurrente que la técnica de espectroscopía infrarroja se use en conjunto con otras técnicas como las que se mencionan en este documento más adelante. A continuación, se ponen como ejemplo espectros FTIR de los agro-bioplásticos encontrados en la literatura (Figura 3) donde se observa que la huella digital para facilitar su identificación. Si bien todos contienen una fuerte señal en la región 1700 a 1800 cm^{-1} la señal 1710 cm^{-1} corresponde a PBAT y PBS, en tanto que 1747 cm^{-1} para PLA y PCL por mencionar un ejemplo.

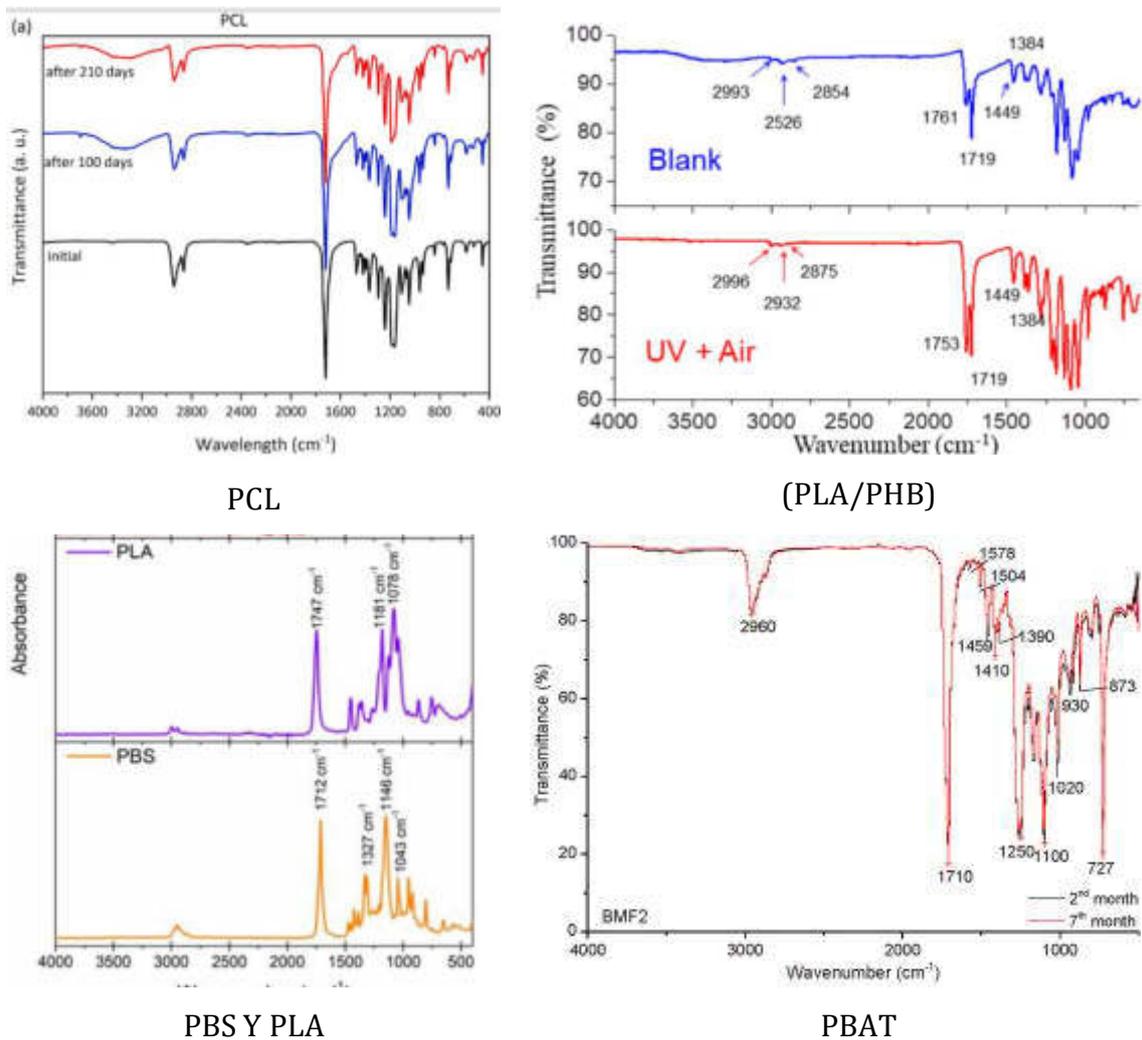


Figura 3: Imágenes de espectros de bioplásticos y combinación de ellos: PCL, PLA/PHB, PBAT, PLA y PBS

Nota: Imágenes retomadas de las siguientes referencias respectivamente: (Corrêa et al., 2022), (Bao et al., 2022), (Qi et al., 2021) y (Panagiotopoulos et al., 2022).

VI.3.3 Análisis térmicos y espectrometría de masas (TGA y DCS/ MS)

Un análisis termogravimétrico mide la velocidad de cambio de masa en función de la temperatura, así mismo determina las temperaturas de volatilización, estabilidad térmica y los porcentajes de pérdida en peso en atmósferas de nitrógeno, oxígeno o aire. Los resultados de caídas de peso pueden representar cualquier componente de la película bioplástica, por ejemplo: plastificantes o aceites, refuerzos o cargas, polímeros y material o residuo orgánico. Si la corriente de TGA se acopla a un espectrofotómetro de masas es posible hacer la identificación de los componentes del bioplástico. En el caso de los hilos

de una tela constituida de PLA/PBAT por (Bao et al., 2022), las muestras fueron sumergidas en agua de mar, con diferentes factores para inducir la degradación (luz UV, aire, luz UV + aire, oscuridad + aire) por 4 semanas y cada semana se media la pérdida de masa mediante la técnica TGA y el porcentaje de degradación a través de un FTIR- IR. En otro estudio reportado como resumen de la Unión Europea de Geociencias (Hassanein, 2019) correlacionan tres técnicas termoextracción y desorción (TED), con la cromatografía de gases (GC) y espectrometría de masas (MS), aquí la muestra se piroliza y los productos obtenidos se pueden utilizar para identificar el polímero y determinar los contenidos de masas, este método se ha aplicado para bolsas de PLA y PBAT, contenidas en dos ambientes compost y compost/suelo.

En un estudio (Arrieta et al., 2014) mediante composteo se evaluó la degradación de una película constituida de PLA con PHB, las muestras de la película pirolizada a 1000°C durante 0.5 segundos, posterior mediante un cromatógrafo de gases con intervalos de aumento de temperatura en la columna de 5°C por minuto hasta llegar a 200°C, como paso final la muestra pasa por un espectrómetro de masas el cual puede programarse para detectar ciertos rangos de masas en este caso para el PLA – PBAT un rango de 30 a 650 uma (unidad de masa atómica).

Con la colorimetría diferencial de barrido podemos conocer las condiciones de temperatura con las que el material plástico fue extruido, por lo que si se cuenta con una biblioteca de referencia tendremos la facilidad de identificar las partículas plásticas, de igual forma con los cambios de temperatura que se presenten en el espectro corresponden a cambios exotérmicos o endotérmicos y son particulares para cada tipo de bioplástico. Sin embargo, en la literatura no se han encontrado trabajos con uso de esta técnica para identificación de bioplásticos volviéndose entonces en un área de oportunidad.

VI.3.4 Cromatografía por exclusión de tamaño y espectrometría de masas (SEC y MS)

Debido a que se trata de un método físico donde a través de una columna con perlas porosas que se ha usado para la separación de microplásticos en agua o contenidos en algún solvente, estas partículas por diferencia de tamaños se vuelven estacionarias por

lo que se quedan atrapadas en los poros de las perlas y las demás continúan moviéndose a través de la columna definiéndose móviles.

Esta técnica permite la separación de fracciones de diferentes plásticos para ser luego acopladas a las anteriormente mencionadas térmicas acopladas a GC y MS. Por ejemplo está el estudio de (Krawczyk-Walach et al., 2021) emplearon dos técnicas una GC /MS; la otra Py GC/MS para cuantificar lo obtenido de la despolimerización del PLA. Hasta ahora la técnica de GPC solo se ha aplicado para determinar cambios en la distribución del peso molecular debido a fragmentación a nivel laboratorio (Ivleva, 2021) y de mezclas de biopolímeros conocidas (Meng et al., 2023), sin embargo, no se ha probado para mezclas de fragmentos o microplásticos de morfologías variadas o mezclas complejas de bioplásticos. Lo anterior hace a la técnica GPC prometedora en el análisis de bioplásticos.

VI.4 Técnicas de cuantificación

Determinar la estructura química, la presencia de grupos funcionales y posibles ramificaciones de los biopolímeros es indispensable para reducir los falsos positivos obtenidos mediante identificación bajo microscopía, si bien durante este proceso pueden interferir aditivos o cargas contenidas, en realidad la muestra se vuelve bastante compleja cuando se desconoce su origen que sería el caso de los suelos agrícolas los cuales han sido trabajados con poliolefinas. Sin embargo por lo consultado se ha estado trabajando en protocolos que optimicen el análisis de MP en matrices complejas como lo son el suelo y agua, si bien (Yang et al., 2021) destaca “el estado actual del conocimiento sobre la metodología analítica, la ocurrencia, las características, las fuentes potenciales y la predicción de la contaminación de los MP en los suelos, que es de gran importancia para la investigación futura de los microplásticos en la recuperación, el control y la reducción”.

VI.4.1 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La técnica HPLC implica que previamente debe llevarse a cabo la despolimerización de la muestra que contiene los biopolímeros disueltos en el solvente; el solvente denominado fase móvil mediante una bomba de alta presión se mueve hacia la columna HPLC la cual contiene el material cromatográfico (fase estacionaria) necesario para realizar la separación, el equipo cuenta con detectores de absorbancia UV, detector de fluorescencia

o bien con detectores de dispersión de luz, conectados a una pantalla que genera el cromatograma. La desventaja de esta técnica es que la despolimerización incompleta del bioplástico afecta la cuantificación correcta (Fojt et al., 2022), además de que aún los mecanismos de despolimerización son un tanto desconocidos incluso para el propio PLA cuando es térmica, enzimática o fotolítica por mencionar algunos.

En un estudio realizado por (L. Wang et al., 2022) empleo LC/MS para despolimerizar y extraer ácido láctico, liberado de unas bolsas de té remojadas a diferentes temperaturas en agua, donde se observó que se liberaba 50 veces más MP de PLA a 95°C sumergida la bolsa de 1 té durante 5 minutos, que en agua fría, En este mismo estudio se “se confirmó que PLA se despolimeriza a ácido láctico en una solución de reacción orgánica alcalina (es decir, 1-pentanol con KOH)”.

VI.4.2 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (NMR)

A través de la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protones se puede determinar la estructura molecular y la composición química de los compuestos contenidos en una muestra.

Chen y colaboradores obtuvieron buenos resultados empleado este método para bolsas de supermercado de PLA, PBS y PBAT, indicaron que este método era preciso, simple y factible para detectar los contenidos de los bioplásticos, las soluciones se prepararon con tetraclorobenceno y cloroformo deuterado, debido a la presencia de almidón y otros componentes; el PLA, PBS y PBAT se extrajeron mediante extracción Soxhlet (Xinqi, 2021). En otro estudio Nishida caracterizó una muestra conocida de PLA con PBAT, con el análisis DCS concluyeron que la cristalinidad del PLA disminuye al aumentar la concentración del PBAT, y mediante NMR determinaron el punto de ruptura de tracción dinámica, por tal caso estas propiedades se pueden considerar al momento de extruir una película bioplástica para acolchado agrícola (Nishida et al., 2020). Por otro lado Nelson estudió siete muestras de suelo contaminadas con una película biodegradable de Sansonnens (Estavayer, Suiza) constituida de PBAT y PLA para acolchado de suelos, como cosolventes utilizó cloroformo (CHCl₃) y metanol (MeOH) (ambos de grado HPLC en proporción 9 a 1), y cloroformo deuterado (CDCl₃) (99,8% de átomos D), llegando a la conclusión la facilidad de eliminar el metanol y cloroformo mediante extracción Soxhlet

así completar la parte de extracción de biopolímeros para luego cuantificar por medio de q-1H NMR (Nelson et al., 2019). Otros autores aplicaron un procedimiento similar ahora adaptado a cuantificación de PBS en suelo (Nelson et al., 2022).

Por lo anterior se considera esta técnica como un área de oportunidad para cuantificación de otros bioplásticos en suelos de importancia agrícola.

VI.5 Uso de otras moléculas trazadoras

Los aditivos plásticos buscan mejorar las características tanto físicas como químicas de los materiales, en acolchados plásticos se emplean principalmente fotoestabilizadores, los antiácidos, y los modificadores de tensión superficial, la cantidad de aditivos varían si se trata de un PE, PP o PVC, en un estudio (Scopetani et al., 2022) analizo muestras de suelos que contenían PVC, evaluó la presencia del DEHP un plastificante, y encontró cantidades significativas de este, a pesar de que es una fuente de contaminante también sirve como indicador para en este caso para el PVC, porque puede considerarse la presencia de aditivos en el suelo como un inductor de la presencia de bioplásticos. En un estudio hecho por Savva y colaboradores extrajeron ciertos aditivos utilizando acetona, tolueno y metanol como solventes mediante extracción asistida por ultrasonido, encontraron para PLA un plastificante llamado polietilenglicol el cual puede utilizarse como indicador al caracterizar un MP que se sospeche su origen (Savva et al., 2023).

VI.6 Uso de impedancia espectroscópica

En un estudio por Ching y colaboradores se propuso la identificación de MP usando microelectrodos interdigitados para muestras in situ de agua que contenía poliestireno (PS) y polipropileno (PP), se prepararon distintas muestras con diferentes tamaños de partículas contenidas en agua desionizada, concluyeron que es una técnica donde no se necesita preparación de muestra, es un análisis rápido y es de bajo costo, su desventaja es que la sobreposición de piezas puede reducir la precisión, esta técnica igual podría utilizarse una vez se hayan separado los biosólidos por diferencia de densidades, así mismo con fuerzas centrifugas romper los aglomerados para evitar falsos positivos (Ching et al., 2022).

VII. DIRECTORIO

VIII.1 Preguntas de entrevista a investigadores trabajando en bioplásticos

1. ¿Se sabe que, durante el proceso de degradación en suelo de una película, se liberan ciertas sustancias, sabrá qué tipos de sustancias son?

El entrevistado considera importante no permitir que se degrade todo tipo de material plástico, una vez que termine la vida útil del material plástico, tenemos que contar con una vía o ruta para poder reprocesarlo obteniendo material de la misma calidad o bien productos con menos requerimientos. Nos pone como ejemplo, las películas de invernadero una vez desechadas pueden ser consideradas para inyectar nuevos materiales como macetas o charolas. Mencionó que en nuestro país se cuenta con una planta recicladora de PET y en Texas existe una planta para reciclar polietileno ambas plantas emplean la despolimerización. Recalca la importancia en evitar que el material se degrade y se pierda causando contaminación por micro y nanopartículas, señalando que faltan más estudios para verificar la toxicidad de cada compuesto contenido en las películas plásticas independientemente de su origen.

2. ¿Qué polímeros biodegradables se han implementado en el CIQA para la elaboración de películas plásticas que pudieran ser utilizados en la agricultura?

En CIQA en planta piloto se han extruido diversos polímeros principalmente compostable, sin embargo, por dueños externos a CIQA no está permitido revelar el tipo de biopolímero, pero nos dice que se han empleado para empaque de alimentos, así mismo menciona que quizás por lo relativamente nuevos que son estos materiales se desconoce si estos pueden despolimerizarse, pero cuentan con la ventaja de ser compostable.

3. ¿En el CIQA que técnicas de cuantificación se han empleado para identificar microplásticos presentes en agua o suelo?

Si bien no se cuenta con un servicio como tal que consista en analizar microplásticos en suelo agrícola o bien en agua, comenta que se han implementado ciertas técnicas para investigación que determinan la degradación de los plásticos; propone como inicio de protocolo realizar un muestreo de suelos que se consideren contaminados, debido a que en el departamento de biociencias se cuenta con un muestreador de suelos con el cual fácilmente se podría acudir al sitio y efectuar la toma de muestras, para posterior separar

las partículas mediante flotación en agua o alguna solución alcalina siempre con una densidad mayor a la de los plásticos y con ayuda de un estereomicroscopio determinar una distribución de tamaños, para profundizar sobre el tipo de material plástico, propone fundir toda la muestra y mediante un análisis FTIR obtener su espectro y la cuantificación, y mediante un análisis DSC diferenciar por lo menos si estamos hablando de un plástico de alta o baja densidad.

4. Hablando del proceso de extrusión para la elaboración de películas plásticas destinadas para uso agrícola, ¿podemos obtener los pellets en el mercado como grado o nivel agrícola?

Los grados de la película proviene del proceso y del material, el grado alimenticio debe tener pocos contaminantes y estar libre de metales pesado debe cumplir con las normas FDA, durante el proceso conservar la medidas de higiene, y para grado médico comercialmente hablando es poco probable que exista, pero para procesar una película se tiene que extruir con muchas más restricciones que para alimentos y pasar por un proceso de esterilización; el grado industrial engloba todo tipo de materiales dentro de los cuales entraría los materiales plásticos que se ocupan en la agricultura.

5. ¿Si en un futuro se ofreciera el servicio de identificación de microplásticos en muestras ambientales, considera accesible para un productor pagar por el estudio?

Independientemente de la inversión que se pretenda realizar la persona que desea pagar por el servicio tiene que tener una idea de todo lo que implica realizar el estudio, en primer lugar el hecho de tomar las muestras de suelo implica trasladarse al lugar de estudio lo que considera transporte y viáticos para los técnicos, contemplar el número muestras/hectárea y para el análisis de bioplásticos conlleva tiempo de trabajo en laboratorio y uso de los equipos, el precio es relativo de acuerdo a la calidad de los productos que el agricultor desea obtener.

VIII.2 Extranjeros

Tabla 3: Contactos extranjeros relacionados con las técnicas de extracción, identificación y cuantificación de bioplásticos.

Nombre, contacto y ORCID	Adscripción	Área de desarrollo
--------------------------	-------------	--------------------

<p>Esperanza Huerta Lwanga ehuerta@ecosur.mx https://orcid.org/0000-0002-4552-5703</p>	<p>Departamento Agricultura, Sociedad y Ambiente, El Colegio de La Frontera Sur, Unidad Campeche, Campeche, México y su segunda adscripción es en institución extranjera: Soil Physics and Land Management Group, Wageningen University & Research, P.O. Box 47, 6700 AA, Wageningen, the Netherlands</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Métodos de extracción de muestras de suelo agrícola, sedimentos, tejido animal y agua. 2. Identificación de bioaccolchado por Laser Direct Infrared Imaging system (LDIR).
<p>Shruti Venkata Chari shrutiv@geologia.unam.mx</p>	<p>Instituto de Geología, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Ciudad Universitaria, Del. Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, México.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 3. Métodos de extracción de agua y aire. 4. Identificación por ATR-FTIR spectroscopy acoplado a microscopio.
<p>Michael Sander michael.sander@env.ethz.ch https://orcid.org/0000-0003-3383-2041</p>	<p>Institute of Biogeochemistry and Pollutant Dynamics, ETH Zurich, 8092 Zurich, Switzerland</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Extracción de bioplásticos PBAT y PBS de suelo. 2. Cuantificación por ¹H NMR.

ORCID: número de 16 dígitos de identificación única del investigador

VIII.3 Nacionales

Tabla 4: Catedráticos e investigadores del CIQA, relacionados con las técnicas de identificación y cuantificación de bioplásticos mencionados en este caso de estudio.

Habilidades	Contacto (Nombre, contacto y ORCID)
FTIR NMR GC-MS	Alfredo Rosales Jasso alfredo.rosales@ciqa.edu.mx https://orcid.org/xxx
FTIR, DCS y TGA	María del Rosario Rangel rosario.rangel@ciqa.edu.mx
Preparación de formulaciones de bioplásticos basados en PCL	Ramón Enrique Díaz de León ramon.diazdeleon@ciqa.edu.mx https://orcid.org/0000-0002-1841-9227
Preparación de compositos de PLA y bioplásticos FTIR	Heidi Andrea Fonseca Florido heidi.fonseca@ciqa.edu.mx Rocío Yaneli Arguirre Loredo yaneli.aguirre@ciqa.edu.mx
FTIR, NMR, TGA, MS y DCS	Jesús olivo Padilla jesus.olivo@ciqa.edu.mx

VIII. CONCLUSIONES

Con este caso de estudio se concluye que actualmente la información relacionada con extracción, identificación y cuantificación de bioplásticos utilizados en la agricultura es considerablemente poca, los estudios que se consultaron la mayoría son a nivel laboratorio probando el tiempo que supone la degradación completa del material esperando que no genere cambios en este caso en las propiedades fisicoquímicas del suelo. En la mayoría de los casos se ajustaron las técnicas que se han empleado los microplásticos tradicionales para proponer protocolos para bioplásticos.

Las técnicas de extracción, identificación y cuantificación de bioplásticos en suelos agrícolas se encuentran en pleno desarrollo por lo que la información aún no es basta para poder hacer un estándar, sin embargo, es un área de oportunidad para seguir generando información.

Referente a las técnicas para bioplásticos utilizados en la agricultura es de suma importancia contar con un protocolo que nos permita conocer el grado de contaminación del suelo en el cual se pretende producir alimentos; con la agricultura intensiva se ha creado diversos materiales plásticos que han hecho más práctico producir a grandes volúmenes, como todo material que no tiene un adecuado desecho genera contaminación, en algunos estudios se asume que los cultivos adsorban esas diminutas partículas y éstas terminen en las verduras o frutas para consumo humano, las técnicas empleadas para plásticos convencionales pueden ajustarse para bioplásticos, considerando la densidad, la temperatura de transición vítrea, el punto de fusión, puesto que son inferiores a los plásticos convencionales.

Con lo recabado en la entrevista coincido en la importancia de colocar todo residuo en su destino predicho, debido a que no solo los materiales plásticos y ahora bioplásticos se degradan en el medio ambiente en tamaños micro provocando contaminación de aguas, suelos y afectando a la fauna, he aquí la importancia de profundizar más sobre el reciclado y de esta manera con la participación de cada uno de nosotros podrá ser posible en un futuro mejorar el ambiente en el que vivimos.

IX. PERSPECTIVAS

Este caso estudio puede implementarse para consultar las técnicas que se han empleado para bioplásticos, así comparar las que se ajusten a su presupuesto, considero que importante indagar más en la concentración de estos MP en los vegetales, pues son parte de nuestra alimentación, quizá en un futuro establecer un rango permitido para consumo, intentar remediar los suelo de microplásticos creo que es un reto que supera las habilidades del ser humano, pero podemos comenzar por evitar contaminar e implementar más intensamente el reciclado de todo material.

X. NOMENCLATURA

PLA: ácido poliláctico

PHAs: Polihroxicalatos

PHB: Polihidroxicanoatos

PBAT: Poli (butilendipato)

PBS: Poli (succionato de butileno)
PCL: Poli (caprolactona)
MP: Microplástico
TGA: Análisis termogravimétrico
DSC: calorimetría diferencial de barrido
PVC: Policloruro de vinilo
ISO 18400-102:2017:
H₂O₂: Peróxido de hidrogeno
HNO₃: Ácido nítrico
NaOH: Hidróxido de sodio
H₂SO₄: Ácido sulfúrico
KClO: Clorato de potasio
NaCl: Cloruro de sodio
CaCl₂: Cloruro de calcio
ZnCl₂: Cloruro de zinc
NaI: Yoduro de sodio
CsCl: Cloruro de cesio
PET: Tereftalato de polietileno
PA66: Poliamida 66
LDPE: Polietileno de baja densidad
NaH₂PO₄: Difosfato de sodio
PP: polipropileno
PE: polietileno
FTIR: Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier
NIR: Espectroscopia del infrarrojo cercano
ATR: Reflectancia total atenuada
IR: Espectroscopia infrarroja
MS: Espectrometría de masas
SEC: Cromatografía por exclusión de tamaño
LC: Cromatógrafo de líquidos
HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución
CDCl₃: Cloroformo deuterado
Py: Pirólisis

GC: Cromatografía de gases
NMR: Resonancia magnética nuclear
KOH: Hidróxido de potasio
CHCl₃: Cloroformo
MeOH: Metanol
Uma: Unidad de masa atómica

XI. REFERENCIAS

- Ainali, N. M., Kalaronis, D., Evgenidou, E., Kyzas, G. Z., Bobori, D. C., Kaloyianni, M., Yang, X., Bikiaris, D. N., & Lambropoulou, D. A. (2022). Do poly(lactic acid) microplastics instigate a threat? A perception for their dynamic towards environmental pollution and toxicity. *Science of the Total Environment*, 832(April), 155014. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155014>
- Al-Azzawi, M. S. M., Kefer, S., Weißer, J., Reichel, J., Schwaller, C., Glas, K., Knoop, O., & Drewes, J. E. (2020). Validation of sample preparation methods for microplastic analysis in wastewater matrices-Reproducibility and standardization. *Water (Switzerland)*, 12(9). <https://doi.org/10.3390/w12092445>
- Alfolödy, E. (2022, January 8). *Avantium builds first bioplastics plant in Dutch Delfzijl: a historic milestone*. <https://innovationorigins.com/en/avantium-builds-first-bioplastics-plant-in-dutch-delfzijl-a-historic-milestone/>
- Ali, S. S., Elsamahy, T., Abdelkarim, E. A., Al-Tohamy, R., Kornaros, M., Ruiz, H. A., Zhao, T., Li, F., & Sun, J. (2022). Biowastes for biodegradable bioplastics production and end-of-life scenarios in circular bioeconomy and biorefinery concept. In *Bioresource Technology* (Vol. 363, p. 127869). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127869>
- Arrieta, M. P., López, J., Rayón, E., & Jiménez, A. (2014). Disintegrability under composting conditions of plasticized PLA-PHB blends. *Polymer Degradation and Stability*, 108, 307–318. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2014.01.034>
- Bandmann, V., Müller, J. D., Köhler, T., & Homann, U. (2012). Uptake of fluorescent nano beads into BY2-cells involves clathrin-dependent and clathrin-independent endocytosis. *FEBS Letters*, 586(20), 3626–3632.

<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2012.08.008>

- Bao, Q., Wong, W., Liu, S., & Tao, X. (2022). Accelerated Degradation of Poly(lactide acid)/Poly(hydroxybutyrate) (PLA/PHB) Yarns/Fabrics by UV and O₂ Exposure in South China Seawater. *Polymers*, *14*(6). <https://doi.org/10.3390/polym14061216>
- Bibi, A., Can, A., Pant, U., Hardiman, G., Hill, D., Elliott, C., & Cao, C. (2023). A review on state-of-the-art detection techniques for micro- and nano-plastics with prospective use in point-of-site detection. In *Smartphones for Chemical Analysis: From Proof-of-concept to Analytical Applications* (1st ed.). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2022.11.003>
- Bosker, T., Bouwman, L. J., Brun, N. R., Behrens, P., & Vijver, M. G. (2019). Microplastics accumulate on pores in seed capsule and delay germination and root growth of the terrestrial vascular plant *Lepidium sativum*. *Chemosphere*, *226*, 774–781. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.163>
- Cao, J. S., Xu, R. Z., Luo, J. Y., Feng, Q., & Fang, F. (2022). Rapid quantification of intracellular polyhydroxyalkanoates via fluorescence techniques: A critical review. *Bioresource Technology*, *350*(January), 126906. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.126906>
- Ching, C. T. S., Lee, P. Y., Hieu, N. Van, Chou, H. H., Yao, F. Y. D., Cheng, S. Y., Lin, Y. K., & Phan, T. L. (2022). Real-time, Economical Identification of Microplastics Using Impedance-based Interdigital Array Microelectrodes and k-Nearest Neighbor Model. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, *8*, 1–8. <https://doi.org/10.1007/s12257-022-0262-y>
- Corrêa, A. C., de Campos, A., Claro, P. I. C., Guimarães, G. G. F., Mattoso, L. H. C., & Marconcini, J. M. (2022). Biodegradability and nutrients release of thermoplastic starch and poly (ϵ -caprolactone) blends for agricultural uses. *Carbohydrate Polymers*, *282*(December 2021). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.119058>
- Cui, H., Gao, W., Lin, Y., Zhang, J., Yin, R., Xiang, Z., Zhang, S., Zhou, S., Chen, W., & Cai, K. (2020). Development of microwave-assisted extraction and dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry for the determination of organic additives in biodegradable mulch films. *Microchemical Journal*, *160*, 105722. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105722>
- de Souza Machado, A. A., Kloas, W., Zarfl, C., Hempel, S., & Rillig, M. C. (2017). Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems. *Global Change Biology*, *24*(4), 1405–

1416. <https://doi.org/10.1111/gcb.14020>

- Fojt, J., David, J., Příklad, R., Řezáčová, V., & Kučerík, J. (2020). A critical review of the overlooked challenge of determining micro-bioplastics in soil. *Science of the Total Environment*, 745. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140975>
- Fojt, J., Románková, I., Procházková, P., David, J., Brtnický, M., & Kučerík, J. (2022). A Simple Method for Quantification of Polyhydroxybutyrate and Polylactic Acid Micro-Bioplastics in Soils by Evolved Gas Analysis. *Molecules*, 27(6). <https://doi.org/10.3390/molecules27061898>
- Hahladakis, J. N., Velis, C. A., Weber, R., Iacovidou, E., & Purnell, P. (2018). An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *Journal of Hazardous Materials*, 344, 179–199. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.10.014>
- Hassanein, Y.-K. E. (2019). *Detection of microplastics in compost samples using a thermal decomposition method*. <https://web.p.ebscohost.com/abstract?site=ehost&scope=site&jrnl=10297006&AN=140485593&h=jWB8ZNS1tneiSU05xsLRwg5HF%2BSAjcgjqFn0Zco53zbGLXKXWMJ50uJch40anyILB5X5uhJln%2Bgl5c9edvHk1g%3D%3D&crl=c&resultLocal=ErrCrlNoResults&resultNs=Ehost&crlhashurl=login.aspx%3Fdirect%3Dtrue%26profile%3Dehost%26scope%3Dsite%26authtype%3Dcrawler%26jrnl%3D10297006%26AN%3D140485593>
- He, S., Wei, Y., Yang, C., & He, Z. (2022). Interactions of microplastics and soil pollutants in soil-plant systems. *Environmental Pollution*, 315, 120357. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120357>
- Hendrickson, E., Minor, E. C., & Schreiner, K. (2018). Microplastic Abundance and Composition in Western Lake Superior As Determined via Microscopy, Pyr-GC/MS, and FTIR. *Environmental Science and Technology*, 52(4), 1787–1796. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05829>
- Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R. C., & Thiel, M. (2022). Microplastics in the marine environment: A review of the methods used for identification and quantification. *Environmental Science and Technology*, 46(6), 3060–3075. <https://doi.org/10.1021/es2031505>
- Ivleva, N. P. (2021). Chemical Analysis of Microplastics and Nanoplastics: Challenges, Advanced Methods, and Perspectives. *Chemical Reviews*, 121(19), 11886–11936.

<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00178>

- Jakobs, A., Gürkal, E., Möller, J. N., Löder, M. G. J., Laforsch, C., & Lueders, T. (2023). A novel approach to extract, purify, and fractionate microplastics from environmental matrices by isopycnic ultracentrifugation. *Science of the Total Environment*, 857(October 2022). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159610>
- Krawczyk-Walach, M., Gzyra-Jagięła, K., Milczarek, A., & Józwiak-Pruska, J. (2021). Characterization of Potential Pollutants from Poly(lactic acid) after the Degradation Process in Soil under Simulated Environmental Conditions. *AppliedChem*, 1(2), 156–172. <https://doi.org/10.3390/appliedchem1020012>
- Li, C., Cui, Q., Zhang, M., Vogt, R. D., & Lu, X. (2021a). A commonly available and easily assembled device for extraction of bio/non-degradable microplastics from soil by flotation in NaBr solution. *Science of the Total Environment*, 759(xxxx), 143482. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143482>
- Li, C., Cui, Q., Zhang, M., Vogt, R. D., & Lu, X. (2021b). A commonly available and easily assembled device for extraction of bio/non-degradable microplastics from soil by flotation in NaBr solution. *Science of the Total Environment*, 759, 143482. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143482>
- Liu, M., Song, Y., Lu, S., Qiu, R., Hu, J., Li, X., Bigalke, M., Shi, H., & He, D. (2019). A method for extracting soil microplastics through circulation of sodium bromide solutions. *Science of the Total Environment*, 691, 341–347. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.144>
- Lusher, A. L., Welden, N. A., Sobral, P., & Cole, M. (2017). Sampling, isolating and identifying microplastics ingested by fish and invertebrates. *Analytical Methods*, 9(9), 1346–1360. <https://doi.org/10.1039/c6ay02415g>
- Lwanga, E. H., Beriot, N., Corradini, F., Silva, V., Yang, X., Baartman, J., Rezaei, M., van Schaik, L., Riksen, M., & Geissen, V. (2022). Review of microplastic sources, transport pathways and correlations with other soil stressors: a journey from agricultural sites into the environment. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 9(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00278-9>
- Lwanga, E. H., van Roshum, I., Munhoz, D. R., Meng, K., Rezaei, M., Goossens, D., Bijsterbosch, J., Alexandre, N., Oosterwijk, J., Krol, M., Peters, P., Geissen, V., & Ritsema, C. (2023). Microplastic appraisal of soil, water, ditch sediment and airborne dust: The case of agricultural systems. *Environmental Pollution*, 316(P1), 120513.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120513>

- Mangala, S., Zaharin, A., & Singh, V. (2022). Trends in Environmental Analytical Chemistry Quality assessment for methodological aspects of microplastics analysis in soil. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 34(March), e00159. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2022.e00159>
- Mansoor, Z., Tchuenbou-Magaia, F., Kowalczyk, M., Adamus, G., Manning, G., Parati, M., Radecka, I., & Khan, H. (2022). Polymers Use as Mulch Films in Agriculture—A Review of History, Problems and Current Trends. *Polymers*, 14(23). <https://doi.org/10.3390/polym14235062>
- Meng, K., Lwanga, E. H., van der Zee, M., Munhoz, D. R., & Geissen, V. (2023). Fragmentation and depolymerization of microplastics in the earthworm gut: A potential for microplastic bioremediation? *Journal of Hazardous Materials*, 447(January), 130765. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130765>
- Mo, A., Zhang, Y., Gao, W., Jiang, J., & He, D. (2023a). Environmental fate and impacts of biodegradable plastics in agricultural soil ecosystems. *Applied Soil Ecology*, 181, 104667. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104667>
- Mo, A., Zhang, Y., Gao, W., Jiang, J., & He, D. (2023b). Environmental fate and impacts of biodegradable plastics in agricultural soil ecosystems. *Applied Soil Ecology*, 181(June 2022), 104667. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104667>
- Möller, J. N., Heisel, I., Satzger, A., Vizsolyi, E. C., Oster, S. D. J., Agarwal, S., Laforsch, C., & Löder, M. G. J. (2022). Tackling the Challenge of Extracting Microplastics from Soils: A Protocol to Purify Soil Samples for Spectroscopic Analysis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41(4), 844–857. <https://doi.org/10.1002/etc.5024>
- NatureWorks. (n.d.). *Ingeo™ Biopolymer 6260D Technical Data Sheet*. 1–4.
- Nelson, T. F., Baumgartner, R., Jaggi, M., Bernasconi, S. M., Battagliarin, G., Sinkel, C., Künkel, A., Kohler, H. P. E., McNeill, K., & Sander, M. (2022). Biodegradation of poly(butylene succinate) in soil laboratory incubations assessed by stable carbon isotope labelling. *Nature Communications*, 13(1), 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-33064-8>
- Nelson, T. F., Remke, S. C., Kohler, H. P. E., McNeill, K., & Sander, M. (2019). Quantification of Synthetic Polyesters from Biodegradable Mulch Films in Soils. *Environmental Science and Technology*. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b05863>
- Nishida, M., Hayakawa, Y., & Nishida, M. (2020). Correlative analysis between solid-state

- NMR and morphology for blends of poly(lactic acid) and poly(butylene adipate-co-butylene terephthalate). *Polymer*, 200(May), 122591. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2020.122591>
- Panagiotopoulos, C., Mytara, A. D., Vana, M., Barampouti, E. M., Mai, S., & Vouyiouka, S. (2022). *Developing ATR-FTIR spectroscopy as a tool for microplastics detection. Figure 1, 2–4.*
- Praveena, S. M., Aris, A. Z., & Singh, V. (2022). Quality assessment for methodological aspects of microplastics analysis in soil. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 34(March), e00159. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2022.e00159>
- Primard, C., Rochereau, N., Luciani, E., Genin, C., Delair, T., Paul, S., & Verrier, B. (2010). Traffic of poly(lactic acid) nanoparticulate vaccine vehicle from intestinal mucus to sub-epithelial immune competent cells. *Biomaterials*, 31(23), 6060–6068. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.04.021>
- Qi, R., Jones, D. L., Liu, Q., Liu, Q., Li, Z., & Yan, C. (2021). Field test on the biodegradation of poly(butylene adipate-co-terephthalate) based mulch films in soil. *Polymer Testing*, 93, 107009. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.107009>
- Savva, K., Borrell, X., Moreno, T., Pérez-Pomeda, I., Barata, C., Llorca, M., & Farré, M. (2023). Cytotoxicity assessment and suspected screening of PLASTIC ADDITIVES in bioplastics of single-use household items. *Chemosphere*, 313, 137494. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137494>
- Scopetani, C., Chelazzi, D., Cincinelli, A., Martellini, T., Leiniö, V., & Pellinen, J. (2022). Hazardous contaminants in plastics contained in compost and agricultural soil. *Chemosphere*, 293(January). <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133645>
- Sun, Q., Zhang, X., Liu, C., A, N., Ying, S., Zhang, J., Zhao, Y., Zhang, Y., Wang, Z., & Shi, M. (2023). The content of PAEs in field soils caused by the residual film has a periodical peak. *Science of the Total Environment*, 864(October 2022). <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.161078>
- Tamayo-Belda, M., Pulido-Reyes, G., González-Pleiter, M., Martín-Betancor, K., Leganés, F., Rosal, R., & Fernández-Piñas, F. (2022). Identification and toxicity towards aquatic primary producers of the smallest fractions released from hydrolytic degradation of polycaprolactone microplastics. *Chemosphere*, 303(May). <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134966>
- Tammina, S. K., Khan, A., & Rhim, J. W. (2023). Advances and prospects of carbon dots for

- microplastic analysis. *Chemosphere*, 313(September 2022), 137433. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137433>
- Thomas, D., Schütze, B., Heinze, W. M., & Steinmetz, Z. (2020). Sample preparation techniques for the analysis of microplastics in soil—a review. *Sustainability (Switzerland)*, 12(21), 1–28. <https://doi.org/10.3390/su12219074>
- Wang, L., Peng, Y., Xu, Y., Zhang, J., Zhang, T., Yan, M., & Sun, H. (2022). An in Situ Depolymerization and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for Quantifying Polylactic Acid Microplastics in Environmental Samples. *Environmental Science and Technology*, 56(18), 13029–13035. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c02221>
- Wang, Z., Taylor, S. E., Sharma, P., & Flury, M. (2018). Poor extraction efficiencies of polystyrene nano- and microplastics from biosolids and soil. *PLoS ONE*, 13(11), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208009>
- Xinqi, C. (2021). *Determination of Polylactic Acid and Other Components in Biodegradable Plastics*.
- Yang, L., Zhang, Y., Kang, S., Wang, Z., & Wu, C. (2021). Microplastics in soil: A review on methods, occurrence, sources, and potential risk. *Science of the Total Environment*, 780, 146546. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146546>
- Yu, L., Zhang, J. Di, Liu, Y., Chen, L. Y., Tao, S., & Liu, W. X. (2021). Distribution characteristics of microplastics in agricultural soils from the largest vegetable production base in China. *Science of the Total Environment*, 756, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143860>
- Zhang, J., Li, H., Li, Y., Li, S., Xu, Y., & Li, H. (2022). Boron-doped carbon nanoparticles for identification and tracing of microplastics in “Turn-on” fluorescence mode. *Chemical Engineering Journal*, 435(P3), 135075. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.135075>
- Zhang, S., Yang, X., Gertsen, H., Peters, P., Salánki, T., & Geissen, V. (2018). A simple method for the extraction and identification of light density microplastics from soil. *Science of the Total Environment*, 616–617, 1056–1065. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.213>
- Zhao, Z. Y., Wang, P. Y., Wang, Y. B., Zhou, R., Koskei, K., Munyasya, A. N., Liu, S. T., Wang, W., Su, Y. Z., & Xiong, Y. C. (2021). Fate of plastic film residues in agro-ecosystem and its effects on aggregate-associated soil carbon and nitrogen stocks. *Journal of Hazardous Materials*, 416(December 2020), 125954.

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125954>

Zhou, Y., Wang, J., Zou, M., Jia, Z., Zhou, S., & Li, Y. (2020). Microplastics in soils: A review of methods, occurrence, fate, transport, ecological and environmental risks. *Science of the Total Environment*, 748, 141368.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141368>

Zhu, L., Zhu, J., Zuo, R., Xu, Q., Qian, Y., & AN, L. (2023). Identification of microplastics in human placenta using laser direct infrared spectroscopy. *Science of the Total Environment*, 856(August 2022), 159060.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159060>

XII. ANEXOS

Tabla 5: Ventajas y desventajas de las técnicas de extracción, identificación y cuantificación de bioplásticos

Técnica	Ventaja	Desventaja
Resonancia magnética nuclear (NMR)	<p>Fácil preparación en la mayoría de los casos.</p> <p>No se necesitan repeticiones para análisis muestras.</p> <p>Método no destructivo.</p> <p>1 minuto para análisis.</p> <p>Permite cuantificación.</p>	<p>Técnica requiere solventes deuterados.</p> <p>Mantenimiento costoso por el nitrógeno líquido.</p> <p>Requiere experto en interpretación de los datos.</p> <p>Se tiene que tener idea de lo que hay en la muestra (de los polímeros/microplásticos que hay en la muestra).</p> <p>Requiere solo 50 miligramos de muestras (muestras diluídas).</p>
Análisis termogravimétrico (TGA)	<p>Equipo muy común en los laboratorios.</p> <p>Requiere conexión de gas.</p> <p>Cada polímero tiene su gráfica de TGA y el tiempo aproximado de la prueba es de 20 minutos.</p>	<p>Método destructivo calcina la muestra.</p> <p>10 miligramos para muestras para hacer repeticiones.</p> <p>Cuantificación requiere acoplamiento con espectrometría de masas.</p>
Espectroscopía infrarroja (FTIR)	<p>Trabaja a temperatura ambiente.</p> <p>Método no destructivo.</p> <p>Muestra pequeña suficiente para recubrir el cristal.</p>	<p>Varía la lectura en el ángulo que sea analizado.</p> <p>Interferencia con la materia orgánica del suelo.</p>

	<p>La muestra no requiere preparación.</p> <p>Análisis completo en un minuto.</p> <p>Identificación.</p>	
<p>Análisis de infrarrojo cercano (NIR)</p>	<p>La muestra analizada es comparada con la biblioteca.</p> <p>No requiere un experto para interpretar los resultados.</p> <p>Más específica que la FTIR.</p>	<p>Baja detección de la forma y tamaño del plástico.</p>
<p>SEC ó GPC</p>	<p>Análisis rápido.</p> <p>Si el equipo cuenta con diferentes detectores se puede hacer una comparación más completa en el espectro final.</p> <p>Solución muy diluida del plástico.</p> <p>Tamaño de muestra pequeño.</p> <p>Proceso sencillo para preparar la muestra.</p>	<p>El polímero tiene que disolverse completamente en el solvente usado por el equipo.</p> <p>Prueba destructiva.</p> <p>Equipos especiales para solventes (polares y no polares) puede ser difícil de azezar.</p> <p>Puede interferir con los residuos que arrastre la muestra.</p> <p>No hace la distinción entre polímero.</p>
<p>Calorimetría diferencial de barrido (DSC) acoplada a</p>	<p>Específica para cada polímero (respecto al calor emitido).</p> <p>No necesitas preparar la muestra.</p>	<p>Método Destructiva requiere repeticiones.</p> <p>Repetición de fundido y enfriado.</p> <p>Riesgo de reacción dentro de la cápsula que contiene la muestras, por los ciclos de enfriamiento.</p>

Espectrometría de masas (MS)	Muestra pequeña 10 mg. Primer ciclo del DSC utilizable.	Requiere de biblioteca para la identificación. Requiere de un experto.
Cromatografía de gases (GC) acoplada a Espectrometría de masas (MS)	<p>Cuantifica gases de acuerdo a los monómeros puede distinguir que biopolímero contiene la muestra.</p> <p>Los compuestos que se encuentre en muestra líquida pueden pasar por el cromatógrafo de gases.</p> <p>Cromatógrafo de gases es una técnica común y la muestra en microlitro y asimismo técnica rápida.</p>	<p>Método Destructiva requiere repeticiones.</p> <p>Requiere de biblioteca para la identificación.</p> <p>Requiere de un experto.</p>
TGA acoplado a espectrometría de masas (MS)	<p>Preparación de muestras sencilla.</p> <p>Permite mayor variedad de solventes.</p> <p>Respuesta del espectro en minutos.</p> <p>Solo toma en cuenta el polímero en el espectro se puede distinguir y se confirma con masas.</p>	<p>Hacer una curva de calibración de acuerdo con la curva estándar que se obtenga.</p> <p>Biblioteca de biopolímero para poder determinar y cuantificación</p>