



Educación
Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DE
DURANGO**

**INSTITUTO TECNOLÓGICO DEL
VALLE DEL GUADIANA**

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



**“CARACTERIZACIÓN QUÍMICO-BIOLÓGICA DEL BAGAZO DE
AGAVE MEZCALERO PARA LA GENERACIÓN DE UN
PRODUCTO BIOTECNOLÓGICO”**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestría en Ingeniería

Presenta:

Q.B.T. Jazmín Ramírez Ayala

Directora de tesis:

Dra. Carmen Zulema Quiñones Pérez

Co-Directora:

Dra. Karla María Ortega Valdez

Durango, Dgo. México, diciembre, 2025.





**" CARACTERIZACIÓN QUÍMICO-BIOLÓGICA DEL BAGAZO
DE AGAVE MEZCALERO PARA LA GENERACIÓN DE UN
PRODUCTO BIOTECNOLÓGICO"**

Presenta:

Q.B.T. Jazmín Ramírez Ayala

COMITÉ TUTORIAL

<u>Dra. Carmen Zulema Quiñones Pérez</u> Directora	 Firma
<u>Dra. Karla María Ortega Valdez</u> Codirectora	 Firma
<u>Dr. Edgar Gustavo López Saut</u> Asesor	 Firma
<u>Dr. Manuel Ismael Mata Escobedo</u> Asesor	 Firma

Dra. Norma Alicia García Vidaña



**Coordinadora del programa de la
Maestría en Ingeniería.**

Dra. Tania Montoya García



**Jefa de la División de Estudios de
Posgrado e Investigación**

Durango, Dgo. México

Diciembre 2025



Victoria de Durango, Dgo., a **11 / Diciembre / 2025**.

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
DEPI / C / 557 / 2025.

Asunto: Autorización de Tema de Tesis de Maestría.

C. JAZMÍN RAMÍREZ AYALA
No. DE CONTROL M23790003
P R E S E N T E .

Con base en el Reglamento en vigor y teniendo en cuenta el dictamen emitido por el Jurado que le fue asignado, se le autoriza a desarrollar el tema de tesis para obtener el **Grado de Maestra en Ingeniería** cuyo título es:

“CARACTERIZACIÓN QUÍMICO-BIOLÓGICA DEL BAGAZO DE AGAVE MEZCALERO PARA LA GENERACIÓN DE UN PRODUCTO BIOTECNOLÓGICO”

CONTENIDO:

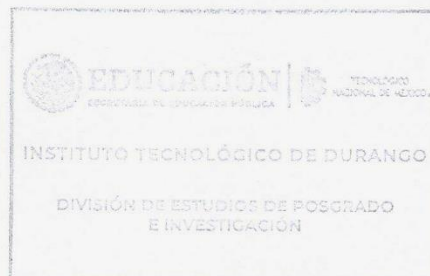
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES
ANEXOS

Lo anterior con la finalidad de que se le dé el seguimiento correspondiente.

A T E N T A M E N T E .

Excelencia en Educación Tecnológica®
“La Técnica al Servicio de la Patria”

C. TANIA MONTOYA GARCÍA
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN



TMG'ammc.



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Blvd. Felipe Pescador No. 1830 Ote.,
Durango, Dgo., C.P. 34080 Tels. 618-818-69-
36
e-mail: deposgrado@itdurango.edu.mx
tecnm.mx | itdurango.edu.mx





Educación
Secretaría de Educación Pública



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO



Instituto Tecnológico de Durango
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Victoria de Durango, Dgo., a **11 / Diciembre / 2025.**

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
DEPI / C / 558 / 2025.

Asunto: Autorización de Impresión de Tesis de Maestría.

C. JAZMÍN RAMÍREZ AYALA
No. DE CONTROL M23790003
P R E S E N T E .

De acuerdo al reglamento en vigor y tomando en cuenta el dictamen emitido por el jurado que le fue asignado para la revisión de su trabajo de tesis para obtener el **Grado de Maestra en Ingeniería**, esta División de Estudios de Posgrado e Investigación le autoriza la impresión del mismo, cuyo título es:

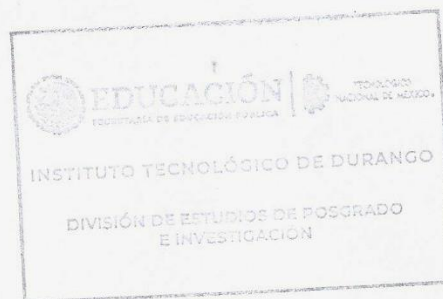
"CARACTERIZACIÓN QUÍMICO-BIOLÓGICA DEL BAGAZO DE AGAVE MEZCALERO PARA LA GENERACIÓN DE UN PRODUCTO BIOTECNOLÓGICO"

Sin más otro particular, le envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E .

Excelencia en Educación Tecnológica®
"La Técnica al Servicio de la Patria"

C. TANIA MONTOYA GARCÍA
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN



TMG'ammc.



2025
Año de
La Mujer
Indígena

Blvd. Felipe Pescador No. 1830 Ote.,
Durango, Dgo., C.P. 34080 Tels. 618-618-69-
36
e-mail: deposgrado@itdurango.edu.mx
tecnm.mx | itdurango.edu.mx





Agradecimientos

A Dios, por ser mi guía constante, por darme la fortaleza y la valentía necesarias para culminar esta etapa.

Se agradece al SECIHTI por todo el apoyo brindado a lo largo del desarrollo del proyecto y por permitirme participar en el programa, al Laboratorio Nacional SECIHTI de Biocombustibles Sólidos (BIOENER) (ApoyoLNC-2023-40), al Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, al Instituto Tecnológico de Durango, al Instituto de Silvicultura e Industria de la Madera, al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias campus Valle del Guadiana por el apoyo brindado con sus equipo e instalaciones para la realización de este estudio, a la academia de genómica del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional campus Durango y a la mezcalera Tradiciones Mezcaleras S.P.R. de R.L. de la vinata Madre Tierra por donar las muestras utilizadas en esta investigación.

A mis asesores académicos por su acompañamiento y orientación. Este proyecto es el resultado de un esfuerzo conjunto, construido a partir del conocimiento compartido, la experiencia y el compromiso de cada uno de ellos. Me siento profundamente agradecida por haber tenido la oportunidad de colaborar y aprender de su calidad académica y humana.

A mi esposo, por su amor, su apoyo incondicional y su paciencia a lo largo de este proceso. A mis padres, por ser mi ejemplo de esfuerzo y perseverancia, y por enseñarme que los sueños se alcanzan con dedicación y fe. A mi hermana y a mi sobrina, por su cariño y por las palabras de aliento que siempre me inspiraron a seguir adelante.

A mis gatitas y a mi perrita, mis compañeras fieles que con su presencia alegraron mis días.

Finalmente, a todas las personas que de alguna manera formaron parte de este camino, gracias por su apoyo, comprensión y compañía. Este logro no es solo mío, sino el reflejo del amor, el esfuerzo y la colaboración.



Resumen

El presente proyecto tiene como finalidad la caracterización química y biológica del bagazo de *Agave durangensis* Gentry, subproducto generado durante la elaboración tradicional de mezcal en el estado de Durango. Esta investigación parte de la necesidad de aprovechar de forma sustentable los residuos agroindustriales derivados del agave mezcalero, con el objetivo de evaluar su potencial para el desarrollo de productos con aplicaciones biotecnológicas y ambientales.

Se realizaron análisis de composición química en muestras de penca y bagazo, destacando la variabilidad en sus propiedades respecto a otros reportes, atribuible a factores como especie, edad del agave, manejo agrícola y condiciones ambientales. Dichas propiedades sugieren una composición adecuada para su uso en procesos industriales, por lo que se recomienda su aprovechamiento integral.

Desde el enfoque microbiológico, se llevó a cabo el aislamiento y caracterización de cepas bacterianas presentes en el bagazo, la penca y el mosto. Se logró identificar cepas con actividad amilolítica, cuya presencia indica la posibilidad de emplearlas en procesos fermentativos o enzimáticos de interés. Las observaciones incluyeron características macroscópicas y microscópicas, así como pruebas cualitativas de actividad enzimática en medio con almidón. La diversidad bacteriana obtenida sugiere que los residuos del agave son una fuente viable de microorganismos con potencial biotecnológico, aunque se recomienda continuar con pruebas bioquímicas, moleculares y de termorresistencia para confirmar sus capacidades metabólicas.

En relación con la producción de carbón activado, el bagazo de agave alcanzó un rendimiento de carbonización del 33.71 % a 350 °C, valor ubicado en el rango superior reportado para procesos sin recuperación de gases. Asimismo, el material obtenido presentó eficiencias de adsorción del naranja de metilo superiores al 99.8 %, comparables a las de carbones comerciales, lo que confirma su viabilidad como materia prima para la obtención de carbón activado.

Los resultados obtenidos permiten concluir que el bagazo de agave y las bacterias que lo habitan constituyen una fuente promisoría de materiales y recursos microbiológicos aplicables en distintos sectores, como el tratamiento de aguas, la agricultura y la biotecnología. Este estudio sienta las bases para futuras investigaciones orientadas al desarrollo de estrategias de aprovechamiento sustentable del agave mezcalero, contribuyendo así a la valorización de sus residuos y al fortalecimiento de prácticas productivas con enfoque ecológico e innovador.



Abstract

The present study aims to carry out the chemical and biological characterization of *Agave durangensis* Gentry bagasse, a byproduct generated during the traditional mezcal production process in the state of Durango, Mexico. This research arises from the need to sustainably valorize agro-industrial residues derived from mezcal agave, in order to evaluate their potential for the development of products with biotechnological and environmental applications.

Chemical composition analyses were performed on leaf (penca) and bagasse samples, revealing variability in their properties compared with other reports. This variability is attributed to factors such as agave species, plant age, agricultural management, and environmental conditions. The observed properties suggest a suitable composition for industrial processes, supporting recommendations for the integral utilization of these residues.

From a microbiological perspective, bacterial strains present in the bagasse, leaf tissue, and must were isolated and characterized. Strains exhibiting amylolytic activity were identified, indicating potential applications in fermentative or enzymatic processes of industrial interest. Observations included macroscopic and microscopic characteristics, as well as qualitative assays of enzymatic activity using starch-containing media. The bacterial diversity obtained suggests that agave residues represent a viable source of microorganisms with biotechnological potential; however, further biochemical, molecular, and thermoresistance analyses are recommended to confirm their metabolic capabilities.

Regarding activated carbon production, agave bagasse achieved a carbonization yield of 33.71% at 350 °C, a value within the upper range reported for processes without gas recovery. Additionally, the resulting material exhibited methyl orange adsorption efficiencies above 99.8%, comparable to those of commercial activated carbons, confirming its viability as a raw material for activated carbon production.

Overall, the results indicate that agave bagasse and the bacteria associated with it constitute a promising source of materials and biological resources applicable to sectors such as water treatment, agriculture, and biotechnology. This study provides a foundation for future research focused on developing sustainable strategies for the utilization of mezcal agave residues, contributing to their valorization and to the strengthening of ecologically oriented and innovative production practices.



Tabla de contenido

Agradecimientos	V
Resumen	VI
Abstract.....	VII
Índice de tablas.....	X
Índice de figuras	XI
Índice de graficas	XII
Capítulo 1	1
Introducción.....	1
1.1 Antecedentes	1
1.1.1 Aplicaciones biotecnológicas de bagazo mezcalero.....	2
1.1.2 Conversión de bagazo mezcalero en carbón activado.....	2
1.2 Justificación	3
1.3 Objetivos	4
1.3.1 Objetivo general.....	4
1.3.2 Objetivos específicos	4
1.4 Delimitación	4
Capítulo 2	5
Marco Teórico	5
2.1 Generalidades del agave.....	5
2.1.1 Distribución y fisiología del agave	5
2.1.2 Ecología microbiana del agave.....	6
2.1.2 Usos tradicionales y económicos del agave	7
2.2 Mezcal	7
2.2.1 Proceso de elaboración del mezcal	8
2.2.2 Mezcal en Durango	10
2.2.3 Subproductos generados en la producción de mezcal y su potencial biotecnológico	11
2.3 Biomasa lignocelulósica.....	15
2.3.1 Aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica.....	16



Capítulo 3	20
Materiales y métodos	20
3.1 Recolección de muestras	20
3.2 Caracterización química	20
3.2.1 Materia seca y humedad	21
3.2.2 Cenizas	21
3.2.3 Grados Brix	22
3.2.4 Proteína cruda	22
3.2.5 Grasa cruda	23
3.2.6 Fibra cruda	23
3.2.7 Fibra Detergente Neutra	24
3.2.8 Fibra Detergente Ácida	25
3.2.9 Lignina	26
3.3 Caracterización biológica	27
3.3.1 Aislamiento	27
3.3.2 Morfología microbiana	31
3.3.3 Actividad amilolítica	32
3.3.4 Conservación de las cepas	32
3.4 Carbón activado	32
3.4.1 Evaluación de la calidad del CA	33
Capítulo 4	35
Resultados y discusiones	35
4.1 Caracterización química	35
4.2 Caracterización biológica	39
4.2.1 Morfología microbiana	39
4.2.2 Actividad amilolítica	54
4.3 Carbón activado	59
Capítulo 5	64
Conclusiones y recomendaciones	64
5.1 Características químicas	64
5.2 Características biológicas	64



5.3 Carbón activado	65
Referencias	66

Índice de tablas

Tabla 1. Composición química de penca, bagazo y mosto de bagazo de agave mezcalero. Porcentaje de materia.	36
Tabla 2. Características morfológicas de los aislados bacterianos obtenidos del mosto de bagazo de agave, cultivados en placas Petri con agar nutritivo y clasificados según la tinción de Gram.	41
Tabla 3. Características morfológicas de los aislados bacterianos obtenidos del bagazo de agave, cultivados en placas Petri con agar nutritivo y clasificados según la tinción de Gram.	44
Tabla 4. Características morfológicas de los aislados bacterianos obtenidos de la penca de agave, cultivados en medio líquido de caldo nutritivo.	46
Tabla 5. Características morfológicas de los aislados bacterianos obtenidos de la penca de agave, cultivados en placas Petri con agar nutritivo y clasificados según la tinción de Gram.	47
Tabla 6. Características morfológicas de los aislados bacterianos obtenidos de la endodermis de penca de agave, cultivados en placas Petri con agar nutritivo y clasificados según la tinción de Gram.	51
Tabla 7. Resultados de la prueba de yodo Gram para evaluar la actividad amilolítica de las cepas obtenidas de mosto de bagazo de agave.	55
Tabla 8. Resultados de la prueba de yodo Gram para evaluar la actividad amilolítica de las cepas obtenidas de bagazo de agave.	55
Tabla 9. Resultados de la prueba de yodo Gram para evaluar la actividad amilolítica de las cepas obtenidas de penca de agave.	56
Tabla 10. Resultados de la prueba de yodo Gram para evaluar la actividad amilolítica de las cepas obtenidas de endodermis de penca de agave.	58
Tabla 11. Resultados de la capacidad adsorbente y porcentaje de remoción del naranja de metilo para el CA experimental y dos carbones comerciales.	61



Índice de figuras

Figura 1. Aislamiento de microorganismos endófitos en penca de agave. Penca triturada en un matraz con 50 ml de caldo nutritivo, incubado a una temperatura de 23°C a 120 rpm durante 72 horas.	29
Figura 2. Aislamiento de microorganismos ubicados en la endodermis de penca de agave. Cubos de endodermis de penca sembrados por contacto directo en caja Petri con agar nutritivo.	31
Figura 3. Solución de naranja de metilo y CA agitado durante 60 segundos.	34
Figura 4. A: Cultivo de mosto de bagazo de agave. B, C, D y E: Cepas seleccionadas y resembradas a partir de la caja A.	40
Figura 5. Cubos de endodermis de hoja de Agave durangensis sembrados en caja Petri con agar nutritivo y encubados a 30°C por un lapso de 72 horas.	50
Figura 6. Determinación de actividad amilolítica. La actividad fue revelada mediante la inundación de las placas con yodo Gram. Las placas con crecimiento microbiano obtenido de penca de agave nombradas como M1 y M4 presentan un halo de clarificación alrededor del crecimiento microbiano.	57
Figura 7. Micrografía CLSM de CA preparado a partir de bagazo de agave y teñido con azul de metileno, visto a 100x y excitado con láser a una longitud de onda de entre 600 y 700 nm.	63



Índice de graficas

Gráfica 1. Curva de calibración. Soluciones estándar de naranja de metilo, relación entre la concentración del colorante y su absorbancia.....	60
--	----

Índice de ecuaciones

Eq. 1.....	21
Eq. 2.....	21
Eq. 3.....	21
Eq. 4.....	23
Eq. 5.....	23
Eq. 6.....	24
Eq. 7.....	25
Eq. 8.....	26
Eq. 9.....	27
Eq. 10.....	60
Eq. 11.....	61



Capítulo 1

Introducción

Entre las plantas más destacadas del paisaje mexicano en zonas áridas y semiáridas se encuentran los agaves o magueyes (Barraza-Soto *et al.*, 2014). Estas especies son consideradas fundamentales en dichas regiones, ya que han sido y siguen siendo de gran relevancia económica y cultural para muchos pueblos que las han utilizado durante siglos como fuente de alimento, bebida, medicina, entre otros usos (García-Mendoza, 2007).

El mezcal es una bebida alcohólica que se obtiene del destilado del maguey cuando la planta alcanza una maduración fisiológica (García-Herrera *et al.*, 2010), sin embargo, durante su proceso de elaboración genera residuos como las hojas, el bagazo y la vinaza. Estos subproductos, que actualmente no reciben un aprovechamiento significativo en la agroindustria, pueden acumularse de manera excesiva si no se manejan adecuadamente, lo que podría provocar distintos tipos de contaminación (Pérez, 2021).

Actualmente, se están explorando diversas aplicaciones biotecnológicas para los residuos de la industria mezcalera, con el fin de disminuir su impacto ambiental y potenciar los beneficios para los productores.

1.1 Antecedentes

Alonso y Rigal (1997), fueron de los primeros investigadores en llevar a cabo la caracterización y valorización del bagazo de agave, lo que sirvió como base para numerosas investigaciones posteriores a su época; igual que Macías *et al.* (2010) e Hidalgo-Reyes *et al.* (2015), quienes realizaron la caracterización físico-química del bagazo de agave, probando distintos tipos de extracción de sus componentes, con la finalidad de proponer vías potenciales de valorización.

En estudios recientes se han analizado los subproductos de cuatro especies de agave mezcalero, *Agave angustifolia* Haw., *Agave potatorum* Zucc., *Agave karwinskii* Zucc. y *Agave marmorata* Roezl. De los resultados obtenidos se pudo concluir que la composición y las características fisicoquímicas del bagazo de maguey mezcalero generado durante la



producción de mezcal, varían en función de la especie de agave y el tipo de molienda y destilación utilizadas (Flores-Ríos *et al.*, 2020).

1.1.1 Aplicaciones biotecnológicas de bagazo mezcalero

En la actualidad, existe un número significativo de trabajos e investigaciones sobre aplicaciones biotecnológicas de los residuos de la industria mezcalera. Entre estos se encuentran aquellos que evaluaron su uso como sustrato para la producción de bioetanol, como los estudios de Ortiz-Méndez *et al.* (2017), Flores-Gómez *et al.* (2018) y Delfín-Ruiz *et al.* (2020). Estos investigadores analizaron las condiciones óptimas de pH, temperatura y concentración de enzimas para maximizar la producción de bioetanol, y los resultados demostraron que el bagazo de agave es adecuado para este fin.

En cuanto al uso de bagazo de agave como sustrato para la producción de enzimas, se han publicado diversos estudios como el de Robles-González *et al.* (2019), quienes realizaron cultivos utilizando el bagazo como sustrato y evaluaron la actividad enzimática. Los resultados demostraron que el bagazo de agave es un sustrato adecuado para la producción de enzimas celulolíticas, ligninolíticas y hemicelulolíticas, que pueden ser usadas en aplicaciones industriales.

Otro estudio sobresaliente es el realizado por Gómez (2014), quien investigó el potencial del bagazo de agave como sustrato para la producción de biogás. Se evaluó la influencia del tamaño de partícula y el pretratamiento. Los resultados mostraron que este subproducto puede ser utilizado como sustrato para la producción de biogás, mediante procesos de digestión anaeróbica.

1.1.2 Conversión de bagazo mezcalero en carbón activado

La conversión del bagazo de agave mezcalero en carbón activado es un proceso que ha generado interés en los últimos años debido a su potencial para convertir subproductos de la industria del mezcal en un material útil. Algunas de las investigaciones se centran en diferentes aspectos del proceso, como la metodología y compuestos de activación, las propiedades del carbón activado resultante y sus aplicaciones (Nieto-Delgado *et al.*, 2011; Pérez-Macedo *et al.*, 2017; Rangel-Heredia *et al.*, 2021).



1.2 Justificación

El mezcal es producido en los estados de Oaxaca, San Luis Potosí, Tamaulipas, Michoacán, Zacatecas, Puebla, Guanajuato, Guerrero y Durango, todos ellos con denominación de origen reconocida por el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI, 2018).

Durante el año 2024 se registró una producción total de mezcal (referido a 45% Alc. Vol.) equivalente a 11,362,436 litros, de los cuales el 2.52% fueron producidos en el estado de Durango, según el Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal (COMERCAM, 2025); no obstante, el acelerado crecimiento en la producción de mezcal podría conllevar riesgos ecológicos (Pérez, 2021).

A pesar de que algunas tecnologías para el aprovechamiento de los residuos de la industria del mezcal han alcanzado una madurez suficiente para ser implementadas en proyectos a escala comercial, aún presentan limitaciones en su desempeño y viabilidad económica (Flores-Ríos *et al.*, 2020). Por ello, se continúa investigando intensamente para mejorar sus rendimientos y desarrollar estrategias de proceso más eficientes. Este panorama sugiere que el uso de los residuos de agave ofrece amplias oportunidades, tanto para la investigación básica y aplicada como para el desarrollo tecnológico (Gschaedler *et al.*, 2017).

Teniendo en cuenta los objetivos globales de erradicación de la pobreza, protección del medio ambiente y promoción del bienestar, establecidos en la Agenda de Desarrollo Sostenible, este proyecto busca contribuir a los siguientes Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS):

- **ODS 11: Ciudades y comunidades sostenibles.** Se fomenta el aprovechamiento de los residuos generados en la industria mezcalera, los cuales carecen de una normativa específica para su disposición, promoviendo así una gestión más responsable.



- **ODS 12: Producción y consumo responsables.** Se plantean alternativas para la reutilización de los residuos derivados del proceso de producción del mezcal, reduciendo su impacto ambiental y fomentando prácticas más sostenibles.
- **ODS 15: Vida de ecosistemas terrestres.** La correcta gestión de estos residuos contribuye a la protección de los ecosistemas, evitando su deterioro por una disposición inadecuada.

Este enfoque busca alinear el proyecto con las estrategias globales de sostenibilidad, promoviendo soluciones que minimicen el impacto ambiental de la industria mezcalera.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Determinar las características químico-biológicas del bagazo de agave mezcalero (*Agave durangensis* Gentry) que se origina durante la elaboración de mezcal artesanal para la generación de un producto biotecnológico.

1.3.2 Objetivos específicos

- Aplicar diversas técnicas de caracterización de materia orgánica para determinar los componentes de la fibra de bagazo mezcalero.
- Analizar la viabilidad del bagazo de agave como materia prima para la producción de carbón activado.
- Identificar microorganismos endófitos en plantas de *Agave durangensis* que presenten actividad enzimática.

1.4 Delimitación

Este estudio se centra en el análisis químico proximal y el aislamiento biológico de consorcios microbianos presentes en los residuos generados durante la producción de mezcal artesanal en la mezcalera Tradiciones Mezcaleras S.P.R. de R.L., ubicada en la vinata Madre Tierra, en el municipio de Nombre de Dios, Durango, México. Por lo tanto, el proyecto se limita a generar información que permita una caracterización más detallada de



estos residuos, además de proponer una metodología para obtener carbón activado a partir del bagazo de agave.

Capítulo 2

Marco Teórico

2.1 Generalidades del agave

Los agaves son plantas perennes presentes en casi todos los tipos de vegetación de México, constituyen uno de los grupos vegetales más relevantes en términos culturales y económicos, ya que han sido aprovechados por las comunidades americanas durante miles de años (Sierra, 2005). El cambio climático global, junto con la expansión de los mercados de diversos productos derivados del agave, ha generado un creciente interés en estas plantas tanto a nivel nacional como internacional (Gschaedler *et al.*, 2017).

2.1.1 Distribución y fisiología del agave

Entre las plantas endémicas del continente americano se encuentran las del género *Agave*, con una distribución que va desde el sur de los estados unidos, hasta Colombia y Venezuela, incluyendo todas las islas del caribe; de sus aproximadamente 200 especies el 75% se encuentran en México (García- Mendoza, 2007).

En México tiene una amplia y asimétrica distribución que abarca el 75% del territorio, se encuentra de forma muy diversa en provincias áridas y semiáridas del norte y centro del país, pero su número disminuye drásticamente en las provincias húmedas y cálidas al sur (García-Mendoza y Galván, 1995).

Los agaves o magueyes son plantas xerófitas, perenes, adaptadas a vivir en condiciones climáticas desfavorables, con largos periodos de sequías y con cambios extremos de temperatura durante el día y la noche, como consecuencia cuenta con especializaciones morfológicas, entre ellas destacan el almacenamiento de agua durante las épocas de lluvia en sus hojas, su sistema de raíz superficial facilitando la absorción de agua, el almacenamiento de carbohidratos en el centro o corazón de la planta, así como el desarrollo



abundante de fibras en los tejidos de las hojas, que le permite mantener su rigidez durante los periodos de pérdida de agua (García-Mendoza, 2007).

Agave durangensis Gentry es una planta con hojas de 14-24 cm de ancho, gruesas y convexas hacia la base, de color verde cenizo, verde pálido o gris glauco, de ahí que coloquialmente se le conozca como “agave cenizo”, crece en colonias dispersas sobre laderas rocosas y bajadas con grava en pastizales entre los 1,700 a 2,600 m sobre el nivel del mar, en el sur de Durango y al norte de zacatecas (Gentry, 1982).

2.1.2 Ecología microbiana del agave

Dada su notable capacidad para desarrollarse en zonas áridas, cálidas y en suelos pobres en nutrientes, el estudio de la ecología microbiana asociada a las especies de agave ha ganado relevancia (Gschaedler *et al.*, 2017). Los microorganismos endófitos son un claro ejemplo de las relaciones simbióticas que investiga la ecología microbiana, donde éstos forman asociaciones con las plantas en beneficio mutuo.

Los microorganismos endófitos producen metabolitos secundarios a través de sus rutas metabólicas específicas, activadas por las condiciones dentro de las plantas que colonizan. Estos metabolitos a menudo están vinculados con la estimulación del crecimiento vegetal, el control de patógenos y la adaptación a factores abióticos (Pérez *et al.*, 2009). Además, contribuyen a la asimilación de nutrientes orgánicos e inorgánicos, y junto con los microorganismos de la rizosfera, apoyan la nutrición de las plantas y la transferencia de materiales del suelo (Cervantes Tenorio De Reyna y Reyna Pizán, 2019). Sin embargo, los mecanismos moleculares que regulan su interacción con el hospedante aún no se comprenden por completo.

Los metabolitos secundarios aislados incorporan una cifra elevada de agentes novedosos como, por ejemplo: antifúngicos, antibacterianos, citotóxicos, antivirales, nematocidas, anticancerígenos, insecticidas y fitotóxicos. La obtención de algunos metabolitos con características estructurales novedosas, que podrían influir en el descubrimiento de otros compuestos (Soto *et al.*, 2014; González Díaz, 2015).



2.1.2 Usos tradicionales y económicos del agave

La relación ancestral entre el desarrollo de las sociedades humanas y el mundo vegetal es evidente, esta conexión a lo largo del tiempo ha sido clara iniciando por la captura, el uso y la domesticación de ciertas plantas. Aprovechar sus propiedades orgánicas y potenciales recursos, fue fundamental para la construcción, organización y consolidación de una variedad de culturas; En el caso particular de Mesoamérica, el agave tiene un papel importante en la historia social y cultural de las naciones establecidas en esta ubicación (Gschaedler *et al.*, 2017).

Basados en la recopilación arqueológica algunos trabajos sugieren que el maguey se aprovechó como alimento incluso antes que el maíz, aunado a esto existió un desarrollo en la utilización del agave como bebida, fuente de material textil en la confección de prendas de vestir, mantas, así como en la elaboración de ungüentos para el tratamiento de heridas, llagas y quebraduras, también de material de construcción utilizando sus hojas como tablas, canales, sogas y como leña para quemar (Payno, 1864; Sierra, 2005; Hernández y Hernández, 2012).

En la actualidad es posible encontrar distintas técnicas de aprovechamiento del agave que han sido adecuadas a los rasgos de cada región, ejemplo de ello es la obtención del ixtle, aguamiel, vinagre, miel, el gusano de maguey uno de los más elevados insectos comestibles, la cutícula de las pencas se emplea como envoltorio culinario conocido como "mixiote", entre otros usos para construcción (Alanís-Flores y González-Álvarez, 2011; Castro-Díaz y Guerrero-Beltrán, 2013; Gschaedler *et al.*, 2017). Pero sin duda los productos de agave con mayor importancia nacional e internacional son las bebidas elaboradas a partir de su fermentación y/o destilación como el pulque, tequila y mezcal (Gschaedler *et al.*, 2017; López, 2022).

2.2 Mezcal

El "mezcal" es una bebida alcohólica que se obtiene mediante la destilación y rectificación de mostos preparados con azúcares extraídos del tallo y la base de las hojas de agaves mezcaleros (lo que se conoce también como cabeza o piña), según lo especificado en la



NORMA Oficial Mexicana NOM-070-SCFI-2016, estos mostos se someten previamente a fermentación alcohólica con levaduras, permitiéndose la adición de hasta un 20% de otros azúcares, siempre y cuando no se alteren las características distintivas del producto, también cuenta con Denominación de Origen Mezcal (DOM) que actualmente comprende los estados de Oaxaca, Guerrero, San Luis Potosí, Zacatecas y Durango, además de 2 municipios de Guanajuato, 11 municipios de Tamaulipas, 29 municipios de Michoacán y 116 municipios de Puebla (Consejo Regulador del Mezcal, 2024).

El mezcal es un líquido transparente que presenta un olor y sabor específicos, dependiendo del tipo de agave utilizado y del proceso de elaboración, puede ser incoloro o tener un tono ligeramente amarillo si ha sido añejado, reposado o abocado, lo cual ocurre durante su almacenamiento en barricas de roble blanco o encino, donde se produce una lenta transformación y maduración (NOM-070).

De acuerdo con las cifras reportadas por el Consejo Regulador del Mezcal (COMERCAM) en su informe del 2025, se certificaron más de 11 millones de litros de mezcal (Referido a 45% Alc. Vol.) en 2024, de los cuales 3.1 millones se envasaron para venta nacional y 8.2 millones para exportación, cabe mencionar que la categoría de mezcal artesanal fue la más producida con el 97.01%

2.2.1 Proceso de elaboración del mezcal

El proceso de elaboración básico del mezcal inicia cuando el agave alcanza su madurez, se retiran las hojas o pencas y se obtiene la piña o cabeza, la cual se cuece y luego se muele para la extracción del jugo que posteriormente se somete a fermentación (con o sin fibra) y finalmente a la destilación; sin embargo, para cada región y mezcal específico se dan variaciones en el proceso, algunos ejemplos son la o las especies de *agave* que son utilizadas; el tipo y tiempo de cocimiento de las piñas; los tipos de molienda; los recipientes donde se lleva a cabo la fermentación y el tiempo de duración, el uso o no de inóculos específicos; el tipo del equipo de destilación, la forma de destilar y si se realiza o no añejamiento (Gschaedler *et al.*, 2017). Todo esto les otorga características organolépticas distintivas, además de permitir la clasificación en diferentes categorías de mezcal. Para alcanzar estas categorías, es necesario cumplir con la NOM-251-SSA1-2009 y someter la materia prima a los procedimientos especificados (NOM-070).



2.2.1.1 Mezcal industrial

Su producción debe incluir, como mínimo, las siguientes cuatro etapas y el equipo correspondiente (NOM-070):

- ☐ Cocción: se debe llevar a cabo el cocimiento de cabezas o jugos de maguey o agave en hornos de pozo, mampostería o autoclave.
- ☐ Molienda: la molienda se debe realizar por medio de tahona, molino chileno o egipcio, trapiche, desgarradora, tren de molinos o difusor.
- ☐ Fermentación: la fermentación se debe desarrollar en recipientes de madera, piletas de mampostería o tanques de acero inoxidable.
- ☐ Destilación: la destilación se debe efectuar en alambiques, destiladores continuos o columnas de cobre o acero inoxidable.

2.2.1.2 Mezcal Artesanal

Su producción debe incluir, como mínimo, las siguientes cuatro etapas y el equipo correspondiente (NOM-070):

- ☐ Cocción: se debe llevar a cabo el cocimiento de cabezas de maguey o agave en hornos de pozo o elevados de mampostería.
- ☐ Molienda: la molienda se debe realizar con mazo, tahona, molino chileno o egipcio, trapiche o desgarradora.
- ☐ Fermentación: la fermentación se debe desarrollar en oquedades en piedra, suelo o tronco, piletas de mampostería, recipientes de madera o barro, pieles de animal, cuyo proceso puede incluir la fibra del maguey o agave (bagazo).
- ☐ Destilación: la destilación se debe efectuar con fuego directo en alambiques de caldera de cobre u olla de barro y montera de barro, madera, cobre o acero inoxidable; cuyo proceso puede incluir la fibra del maguey o agave (bagazo).

2.2.1.3 Mezcal Ancestral

Su elaboración debe cumplir con al menos las siguientes cuatro etapas y equipo (NOM-070):



- ☐ Cocción: se debe se llevar a cabo el cocimiento de cabezas de maguey o agave en hornos de pozo.
- ☐ Molienda: la molienda se debe realizar con mazo, tahona, molino chileno o egipcio.
- ☐ Fermentación: la fermentación se debe desarrollar en oquedades en piedra, suelo o tronco, piletas de mampostería, recipientes de madera o barro, pieles de animal, cuyo proceso puede incluir la fibra del maguey o agave (bagazo).
- ☐ Destilación: la destilación se debe efectuar con fuego directo en olla de barro y montera de barro o madera; cuyo proceso puede incluir la fibra del maguey o agave (bagazo).

2.2.2 Mezcal en Durango

Desde 1995 Durango consiguió la Denominación de Origen y el reconocimiento como territorio protegido y productor exclusivo de mezcal (Gschaedler *et al.*, 2017). Desde entonces es una bebida representativa del estado al ser una actividad económica importante además de formar parte de la identidad cultural de sus habitantes.

En el proceso de elaboración del mezcal en este estado se emplea principalmente el *Agave durangensis*, mientras que el *Agave angustifolia* y el *Agave maximiliana* se utilizan en menor medida (Gschaedler *et al.*, 2017). La mayoría del *Agave durangensis* proviene a partir de poblaciones naturales en predios con permisos de aprovechamiento de agave (SEMARNAT, 2018). Sin embargo, es importante señalar que algunas mezcaleras están explorando y poniendo en práctica el cultivo de agave en plantaciones propias, con el objetivo de garantizar su autoabastecimiento en el futuro (Barraza-Soto *et al.*, 2014).

La industria mezcalera en Durango enfrenta varios retos de transferencia de tecnología y sustentabilidad principalmente en el desarrollo de plantaciones que permitan la conservación de la especie y por otro lado los esfuerzos de los productores para cumplir con la regulación y tecnificación que exigen los organismos reguladores (Gschaedler *et al.*, 2017; Díaz- de la Rosa *et al.*, 2023).



2.2.3 Subproductos generados en la producción de mezcal y su potencial biotecnológico

Durante la producción de mezcal, se generan residuos líquidos llamados vinazas y residuos sólidos conocidos como bagazo y pencas (hojas). En la última década, el aumento de la demanda mundial de mezcal, impulsado por la globalización de la industria, ha llevado a las empresas a reforzar sus esfuerzos para tratar y disponer adecuadamente de estos residuos, esto no solo responde a su compromiso social y ambiental, sino que también abre la posibilidad de aportar valor agregado a su producto (Sánchez-Carmona *et al.*, 2017).

A continuación, se analizan los distintos residuos que se generan desde la cosecha del agave en el campo y en su procesamiento para la producción de mezcal.

2.2.3.1 Pencas

Las características de las pencas u hojas de agave varían dependiendo de la especie, por lo general son suculentas, fibrosa y con la base dilatada, su forma y tamaño va de lineal a lanceolada u ovada, el número de hojas puede estar desde los cinco hasta 200, el contorno expone una mayor diversidad de morfología con dientes que sobresalen y en casi todos los casos una espina al final del ápice cuyo tamaño también es variable, el color se presenta en tonos verdes, glauco, amarillos, rojizos y violetas (García-Mendoza, 2007).

Las pencas son cortadas y separadas de la piña durante el proceso de cosecha del agave, en el cual aproximadamente la piña corresponde en un 54% peso húmedo, las hojas que aparentemente no tienen utilidad corresponden a casi el resto del porcentaje (Sánchez-Carmona *et al.*, 2017).

Las pencas de agave se han utilizado durante siglos para una multitud de propósitos que van desde alimento, material combustible en zonas donde la madera es escasa, como material de construcción y como fibras textiles en la fabricación de cuerdas, prendas de vestir entre otros (García *et al.*, 2017).

Actualmente, diversos estudios se han dedicado a evaluar las fibras de pencas de agave por su capacidad de resistencia y biodegradabilidad (Chaabouni *et al.*, 2006; Hulle *et al.*, 2015). Algunos han desarrollado métodos para la extracción de estas fibras, que abarcan desde procedimientos mecánicos hasta tratamientos químicos, con el objetivo de mejorar



sus propiedades para aplicaciones industriales (Senthamaraikannan *et al.*, 2020). Otros estudios han enfocado sus esfuerzos en procesar las hojas para obtener fructanos e inulina, compuestos con aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica (Bouaziz *et al.*, 2014; Pérez-Zavala *et al.*, 2020).

2.2.3.2 Bagazo

El bagazo es un residuo sólido que resulta de la producción de mezcal, se genera después de que las cabezas de agave fueran cortadas, cocidas y trituradas para extraer los azúcares fermentables (Díaz, 2022); consiste en un conjunto de fibras lignocelulósicas encargadas de dar estructura al cuerpo de la planta (Velázquez, 2019).

Los productores de mezcal no registran con precisión la cantidad de bagazo generada durante el proceso, por lo que la cifra exacta aún es desconocida. Sin embargo, la estimación más aceptada es la de Cedeño (1995), quien calculó que el 40% del peso fresco de la piña de agave tequilero (*Agave tequilana*) se convierte en bagazo. Más recientemente, Flores-Ríos y colaboradores (2020). Analizaron el porcentaje de bagazo en base húmeda (bh) para cuatro especies de agave. Según su estudio, para producir un litro de mezcal, se necesitan entre 7.4 kg y 8.2 kg de *A. angustifolia* y *A. karwinskii*, respectivamente, mientras que para *A. potatorum* y *A. marmorata* se requieren 23.3 kg y 20.4 kg de agave. Dado que las características de los agaves varían según la especie, la cantidad de bagazo generada en la producción de mezcal sigue sin ser totalmente precisa.

El bagazo de agave representa tanto un desafío como una oportunidad en términos de sostenibilidad y aprovechamiento. Los análisis realizados sobre las fibras de diversas especies de agave, han identificado que sus principales componentes son la celulosa, hemicelulosa y lignina (Hidalgo-Reyes *et al.*, 2015; Meza, 2018; Flores-Trujillo *et al.*, 2020), lo cual ha impulsado investigaciones enfocadas en su valorización para aplicaciones industriales y agrícolas. Una de las áreas más estudiadas es el uso del bagazo como materia prima para la producción de biocombustibles, aprovechando su alto contenido de carbohidratos (Yan *et al.*, 2011; Mielenz *et al.*, 2015; Flores-Gómez *et al.*, 2018). Esta opción resulta prometedora, ya que el bagazo de agave no compite con la producción de alimentos y su disponibilidad es considerable. En el ámbito de la construcción, el bagazo ha sido incorporado en materiales biocompuestos, demostrando que la reutilización de residuos en



nuevos procesos de manufactura reduce desechos y maximiza el valor de los materiales (Garza-Elizondo, 2016; Santiago-Mateo *et al.*, 2021; Serrano, 2024). Además, el bagazo se ha investigado como una alternativa en la alimentación de rumiantes, siendo un componente efectivo en las raciones alimenticias durante la estación seca (Ramírez-Cortina *et al.*, 2012; Ruíz *et al.*, 2018). También, se ha evaluado como sustrato hortícola, complementando otros sustratos y facilitando la producción de plántulas (Morán-Salazar *et al.*, 2016; González *et al.*, 2018), destacando su versatilidad en el ámbito agrícola. Finalmente, su potencial en sistemas de biorremediación ha sido explorado, evidenciando su capacidad para mitigar problemas ambientales (Tovar-Corona *et al.*, 2016; Sánchez-Silva *et al.*, 2020).

El bagazo de agave es un recurso valioso que puede ser aprovechado en diversas industrias su utilización no solo contribuye a la sostenibilidad ambiental, sino que también ofrece oportunidades económicas en las comunidades productoras de Mezcal.

2.2.3.3 Vinazas

Las vinazas son un residuo líquido que se genera y permanece en el alambique después de la destilación del mosto de agave fermentado; en las vinazas se conservan las fibras de agave que no se filtraron del mosto o jugo, células de levadura agotada, azúcares residuales, ácidos, ésteres, alcoholes superiores, entre otros. (Sánchez-Carmona *et al.*, 2017). Se ha estimado que por cada litro de mezcal se generan entre 8 a 12 litros de estos líquidos (Robles-González, *et al.*, 2012; Sánchez-Carmona *et al.*, 2017). Se caracterizan por un color oscuro, pH ácido (que oscila entre 3 y 5), una alta conductividad eléctrica, grandes cantidades de materia orgánica y altas concentraciones de sólidos suspendidos y volátiles y, ocasionalmente, contienen metales pesados (USEPA 2004; CETESB 2006). Las vinazas no son residuos peligrosos (Linerio, 2002), pero se consideran un agua residual compleja debido a su composición. Así tanto su composición como características, hacen que estas vinazas sean particularmente dañinas para los ecosistemas acuáticos y la salud del suelo si se liberan sin tratamiento al medio ambiente (Santos *et al.*, 2019; Sagrero, 2023).

Se han explorado varios enfoques para mitigar estos impactos, incluida la digestión anaeróbica, la codigestión con otros materiales orgánicos y los procesos de oxidación avanzada (Santos *et al.*, 2019; Robles-González *et al.*, 2012; Díaz-Barajas, 2024). Por



ejemplo, se ha demostrado que la codigestión de vinazas de mezcal con bagazo de agave mejora la producción de biogás, lo que destaca una vía potencial para la recuperación de recursos de estos flujos de desechos (Gómez *et al.*, 2018; Díaz-Barajas, 2024). Además, se han propuesto estrategias de tratamiento innovadoras, como el uso de celdas de combustible microbianas (CMF), para aprovechar la materia orgánica de las vinazas para la generación de electricidad y, al mismo tiempo, tratar las aguas residuales (Santos *et al.*, 2017). Además, la investigación sobre el uso de vinazas de mezcal para el mejoramiento de la calidad del suelo ha demostrado ser prometedora, aunque se requiere un manejo cuidadoso para evitar consecuencias negativas (Moran-Salazar *et al.*, 2016). La integración de estos métodos de tratamiento no solo aborda las preocupaciones ambientales asociadas con las vinazas de mezcal, sino que también se alinea con las prácticas de gestión sostenible de residuos, promoviendo una economía circular dentro de la industria de producción de mezcal (Martínez *et al.*, 2020; Díaz-Vázquez *et al.*, 2021).

2.2.3.4 Problemática asociada a los subproductos del mezcal

Penca

La hoja de agave, si bien es un subproducto de la planta de agave, presenta varios retos ambientales y biológicos. Estos desafíos se derivan de las grandes cantidades de hojas generadas durante el proceso de cosecha, que a menudo no se utilizan, lo que genera importantes problemas de gestión de residuos (Velarde *et al.*, 2021). Estos desechos no solo contribuyen a la contaminación, sino que también representan una pérdida de recursos potenciales que podrían aprovecharse para la producción de biocombustibles u otras aplicaciones (Tetreault *et al.*, 2021). Uno de los principales problemas asociados con las hojas de agave es su alto contenido lignocelulósico, lo que plantea dificultades en la biodegradación y el uso (Contreras-Hernández *et al.*, 2017). La eliminación inadecuada de las hojas de agave también plantea importantes preocupaciones ambientales, cuando se dejan descomponer en vertederos o se eliminan de forma inadecuada, estas hojas pueden contribuir a la contaminación del suelo y el agua, ya que pueden liberar sustancias nocivas durante la descomposición (Tetreault *et al.*, 2021). Además, la acumulación de residuos orgánicos puede conducir a la producción de gases de efecto invernadero, agravando aún más el cambio climático (Bautista-Cruz *et al.*, 2019). Si bien las hojas de agave suelen



considerarse un producto de desecho en las industrias del mezcal, plantean varios desafíos ambientales y biológicos que deben abordarse.

Bagazo

Por lo general el bagazo de agave es depositado fuera de las vinatas o fábricas de mezcal, en pilas o patios asignados, para ser incinerado, cubierto de tierra o depositado en rellenos sanitarios, así mismo existen tiraderos clandestinos practicando incorporaciones deficientes en suelos, como estrategias para darle salida a la abundante generación de bagazo (Rosete, 2009; Flores *et al.*, 2013; Flores- Ríos *et al.*, 2020). Ejemplo de ello, en Oaxaca, el 84% del bagazo se dispone en ríos y arroyos, o bien es quemado para reducir su volumen (Chávez-Guerrero *et al.*, 2010; Cortés-Martínez y García-Méndez, 2016).

Vinazas

En cuanto a las vinazas suelen ser vertidas en suelos o cuerpos de agua, lo que afecta negativamente (Pérez-Díaz, 2022). En el suelo alteran el pH y por lo tanto la fertilidad, adicionalmente al ser vertido a altas temperaturas puede alterar procesos fotosintéticos, la acumulación de sales y cationes (K^+ , Na^+ , Mg^{++}), lo que incrementa la salinidad y la sodicidad (Tejada *et al.*, 2009). Además, la aplicación excesiva de material orgánico puede reducir la porosidad, promoviendo condiciones anaeróbicas y fitotoxicidad en los cultivos debido a la acumulación de compuestos orgánicos, como ácido acético, ácido láctico y glicerol (Yavuz, 2007); aunado a esto, en cuerpos de agua alteran el pH, temperatura y promueven eventos de eutrofización debido a su alta demanda química de oxígeno (DQO) y sólidos totales (Robles-González, et al, 2012), desafortunadamente hasta el momento, en México no existen normas que regulen la descarga de este tipo de efluentes (Pérez-Díaz, 2022). A pesar de los esfuerzos de consultores, instituciones y grupos de investigación por adaptar y desarrollar procesos biológicos y fisicoquímicos para el tratamiento de vinazas, estos no han logrado ofrecer una solución aplicable para todos los empresarios (Sánchez-Carmona *et al.*, 2017).

2.3 Biomasa lignocelulósica

La energía obtenida de la biomasa tiene su origen en la luz solar, la cual, a través del proceso de fotosíntesis, es aprovechada por las plantas verdes mediante reacciones



químicas en sus células vivas, de esta manera, la energía solar se convierte en energía química que se almacena en diversos compuestos orgánicos, como polisacáridos y grasas, y se transfiere a lo largo de toda la cadena alimentaria, incluido el ser humano (Abril y Navarro 2012).

Mateos-Moreno (2006) define la biomasa como el conjunto de materia orgánica renovable proveniente de fuentes vegetales, animales o resultante de su transformación, ya sea natural o artificial. A partir de esta definición, la biomasa puede clasificarse, según su origen, en biomasa vegetal, animal y residual. La biomasa vegetal comprende toda la materia orgánica de origen vegetal, incluyendo tanto la biomasa lignocelulósica como los productos agrícolas.

Así, la biomasa lignocelulósica es aquella de origen vegetal compuesta principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina, dejando fuera la biomasa rica en almidón, proteínas y azúcares, como los granos, cereales, mieles y similares (Abril y Navarro, 2012). Este tipo de biomasa representa el material orgánico más abundante en la Tierra (Bhagia *et al.*, 2016), y sus fuentes incluyen los bosques, cultivos agrícolas, residuos de cosecha, así como subproductos de industrias como la maderera y la papelera. Inicialmente, la biomasa lignocelulósica se utilizó como fuente de energía, para construcción y como alimento para animales, hoy en día, sus aplicaciones son vastas y esenciales en múltiples sectores como la industria de papel y celulosa, materiales de construcción, combustibles líquidos y gaseosos, entre otros.

2.3.1 Aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica

La biomasa lignocelulósica constituye un recurso renovable clave para generar energía, ofreciendo una alternativa ecológica a los combustibles fósiles. Sus componentes principales (celulosa, hemicelulosa y lignina) pueden transformarse en diversas formas de energía, mediante tecnologías de conversión como la pirólisis, gasificación, fermentación y carbonización hidrotermal (Wu *et al.*, 2014; Cai *et al.*, 2018; Haq *et al.*, 2021). Esta versatilidad la convierte en una opción atractiva para abordar la crisis energética mundial y promover la sostenibilidad ambiental (Sun *et al.*, 2018).

La pirólisis, uno de los métodos más investigados, descompone térmicamente la biomasa en ausencia de oxígeno, generando bio-oil, syngas y carbón (Wu *et al.*, 2014; Cai *et al.*,



2018). La energía de activación necesaria para la pirólisis varía según la composición de la biomasa y las condiciones del proceso (Wu *et al.*, 2014). Optimizar estas condiciones ha demostrado mejorar la eficiencia y calidad de los productos, posicionando la pirólisis como una técnica viable para la generación de energía (Cai *et al.*, 2018).

Además de la pirólisis, los biocombustibles también pueden obtenerse a través de procesos bioquímicos, donde la hidrólisis enzimática de celulosa y hemicelulosa produce azúcares fermentables que, a su vez, se convierten en bioetanol por acción de microorganismos (El-Zawawy *et al.*, 2011; Weiss *et al.*, 2013). Este proceso aprovecha el alto contenido de carbohidratos de materiales lignocelulósicos provenientes de residuos agrícolas y forestales o cultivos dedicados (Kucharska *et al.*, 2018). Sin embargo, dada la estructura compleja de estos materiales, a menudo es necesario realizar pretratamientos, como la explosión de vapor o el uso de líquidos iónicos, para mejorar la accesibilidad enzimática (Agu *et al.*, 2019; Mustafa *et al.*, 2022).

La biomasa lignocelulósica también se puede utilizar para obtener hidrógeno a través de gasificación o métodos fotocatalíticos. La gasificación convierte la biomasa en gas de síntesis, que luego puede procesarse para extraer hidrógeno (Wakerley *et al.*, 2017), mientras que los métodos fotocatalíticos emplean la luz solar para impulsar reacciones químicas que convierten la biomasa en hidrógeno (Speltini *et al.*, 2014).

La valorización de la biomasa lignocelulósica abarca además la generación de productos químicos y materiales útiles. Por ejemplo, el furfural, obtenido de la hemicelulosa, se ha destacado como una plataforma para crear biocombustibles y bioquímicos (Cai *et al.*, 2013). El uso energético de la biomasa lignocelulósica presenta una oportunidad multifacética para la producción de energía, mediante diversas tecnologías de conversión, lo que contribuye a un panorama energético más sustentable.

2.3.1.1 Carbón activado

El carbón activado (CA) es un material amorfo de base carbonosa que destaca por su elevada porosidad y su amplia superficie específica (Fernández-Macedo, 2022). En términos generales, su composición elemental incluye aproximadamente un 88% de carbono, 0.5% de hidrógeno, 0.5% de nitrógeno, 1% de azufre y entre 6% y 7% de oxígeno, mientras que el resto corresponde a cenizas (Bansal y Goyal, 2005).



El carbón activado obtenido a partir de biomasa lignocelulósica, ha captado un interés creciente debido a sus posibles aplicaciones en áreas como la remediación ambiental, el almacenamiento de energía y como base para diversos procesos químicos. La biomasa lignocelulósica, compuesta principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina, se considera una materia prima ideal para fabricar carbón activado con propiedades deseables, como alta porosidad y una extensa superficie específica (Nor *et al.*, 2013; Puligundla *et al.*, 2016; Contescu *et al.*, 2018). Este enfoque no solo ofrece una alternativa más sostenible frente a las fuentes de carbono tradicionales, sino que también contribuye a la gestión de residuos al aprovechar subproductos agrícolas y forestales (Nor *et al.*, 2013; Contescu *et al.*, 2018).

La producción de carbón activado a partir de biomasa lignocelulósica implica tres etapas principales: carbonización, activación y postratamiento. La carbonización consiste en la descomposición térmica de la biomasa, transformando el material orgánico en carbón (Nor *et al.*, 2013; Contescu *et al.*, 2018). Posteriormente, el carbón se somete a un proceso de activación, que puede ser físico (mediante vapor) o químico (utilizando compuestos como hidróxido de potasio o ácido fosfórico), con el objetivo de aumentar su área superficial y desarrollar su estructura porosa (Li *et al.*, 2016; Arundina *et al.*, 2021). El método de activación seleccionado tiene un impacto significativo en las propiedades finales del carbón activado, como su distribución de tamaño de poros, su área específica y su capacidad de adsorción (Nor *et al.*, 2013; Puligundla *et al.*, 2016; Contescu *et al.*, 2018).

El carbón activado es reconocido por su efectividad como material adsorbente debido a su red de poros bien desarrollada. Según la clasificación de la IUPAC, los poros se dividen en microporos (<2 nm), mesoporos (2-50 nm) y macroporos (>50 nm). Además, presentan áreas superficiales que pueden variar entre 500 y 3000 m²/g (Días *et al.*, 2007; Abdullah, 2011; Rivera *et al.*, 2011). Este material también posee características químicas en su superficie, influenciadas por la presencia de heteroátomos como oxígeno, nitrógeno, hidrógeno, azufre y fósforo, lo que contribuye a su diversidad funcional (Shafeeyan *et al.*, 2010).

El uso de biomasa lignocelulósica para producir carbón activado también genera importantes beneficios ambientales. Aprovechar residuos agrícolas y forestales reduce la



dependencia de recursos no renovables y contribuye a disminuir la contaminación del aire y el agua (Nor *et al.*, 2013; Contescu *et al.*, 2018). Este proceso cierra eficazmente el ciclo del carbono al transformar desechos en productos útiles, fomentando la sostenibilidad y una gestión más eficiente de los recursos (Nor *et al.*, 2013; Contescu *et al.*, 2018).

2.3.1.2 Comunidades microbianas

Las comunidades microbianas presentes en ambientes lignocelulósicos desempeñan un papel fundamental en la descomposición de esta biomasa, lo que ha permitido identificar microorganismos con un alto potencial para aplicaciones en la producción de biocombustibles y bioconversión (Wang *et al.*, 2016). Investigaciones recientes han destacado consorcios microbianos capaces de degradar eficientemente materiales lignocelulósicos, por ejemplo, en análisis metagenómicos han identificado una alta prevalencia de Actinobacteria y Firmicutes en ambientes de compost ricos en sustratos lignocelulósicos, como paja de arroz y aserrín; estos microorganismos tienen un notable potencial para la producción de lignocelulasas termoestables, enzimas esenciales para descomponer la estructura compleja de la lignocelulosa y liberar azúcares utilizables en procesos de fermentación (Wang *et al.*, 2016).

Por otro lado, los enfoques metagenómicos han facilitado el descubrimiento de enzimas activas en carbohidratos, mejorando nuestra comprensión de la capacidad microbiana para descomponer la lignocelulosa, por ejemplo, la extracción de ADN ambiental de biomasa lignocelulósica ha permitido identificar nuevos genes que codifican celulasas y xilanasas, enzimas esenciales para la hidrólisis de celulosa y hemicelulosa, respectivamente (Montella *et al.*, 2017). Estas enzimas no solo simplifican la degradación de la lignocelulosa, sino que también incrementan la digestibilidad de los sustratos, favoreciendo la producción de bioetanol (Hu *et al.*, 2011).

Paralelamente, las vías metabólicas de los microorganismos involucrados en la degradación de lignocelulosa están siendo estudiadas para aprovechar su potencial en la síntesis de bioquímicos de alto valor, por ejemplo, la conversión de azúcares lignocelulósicos en biohidrógeno y otros compuestos renovables representa un campo de investigación activo, donde se han diseñado cepas microbianas optimizadas para maximizar la utilización de azúcares (Singh *et al.*, 2015; François *et al.*, 2020).



La exploración de las comunidades microbianas asociadas con biomasa lignocelulósica ha revelado una gran variedad de microorganismos capaces de descomponer polisacáridos complejos (François *et al.*, 2020). La identificación y caracterización de estos consorcios y sus enzimas representa un avance crucial para el desarrollo de aplicaciones biotecnológicas en la producción de biocombustibles y la valorización eficiente de la biomasa.

Capítulo 3

Materiales y métodos

3.1 Recolección de muestras

Para el desarrollo de este estudio las muestras fueron donadas por la mezcalera Tradiciones Mezcaleras S.P.R. de R.L. de la vinata Madre Tierra, que se ubica en el municipio de Nombre de Dios, Durango, México, (23°50'37"N 104°13'55"W).

La recolección de pencas se realizó el día 18 de octubre del 2023 en el ejido El Venado ubicado en el municipio de Nombre de Dios, Durango, México, (23°47'08"N 104°18'29"W). Con un muestreo sistemático se seleccionaron 10 plantas de entre 10 a 19 años de edad de *Agave durangensis*, de las cuales se colectó una hoja de desarrollo intermedio.

El bagazo y mosto se colectó aproximadamente una semana después en la vinata Madre Tierra, tras el procesamiento de la piña y la obtención del mezcal; se utilizaron guantes y recipientes de almacenamiento estériles, y cada muestra fue debidamente etiquetada e identificada al momento de la recolección.

3.2 Caracterización química

La caracterización química del material se llevó a cabo mediante un Análisis Químico Proximal (AQP), un método analítico que permite determinar el porcentaje de los principales componentes del material evaluado. Estos análisis fueron realizados en las instalaciones del Instituto de Silvicultura e Industria de la Madera (ISIMA-UJED), ubicado en Boulevard 501, Ciudad Universitaria, 34120 Durango, Dgo.

3.2.1 Materia seca y humedad

El porcentaje de humedad en penca, bagazo y mosto fue determinado siguiendo la metodología de la Asociación de Químicos Agrónomos Oficiales (AOAC, 2023), específicamente utilizando el método 934.01. Este procedimiento se basa en la pérdida de agua de la muestra, convertida en vapor. Para ello, se colocó 1 g de muestra en un crisol de porcelana previamente estabilizado en peso, registrando su peso inicial (P1). Luego, el crisol fue sometido a una temperatura de 105 °C durante 24 horas en una estufa de secado. Después del secado, el crisol se dejó enfriar en un desecador y se registró su peso final (P2). El porcentaje de humedad se calculó mediante la siguiente ecuación (Eq. 1):

Eq. 1

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_1 - P_2}{\text{Gramos de Muestra}} \times 100$$

A partir del porcentaje de humedad obtenido, es posible calcular el porcentaje de materia seca en la muestra utilizando la siguiente ecuación (Eq. 2):

Eq. 2

$$\% \text{ Materia Seca} = 100\% - \% \text{ Humedad}$$

3.2.2 Cenizas

Para determinar el contenido de cenizas en penca, bagazo y mosto, se utilizó el método de la AOAC (Thiex *et al.*, 2019) con identificación 942.05. En un crisol de porcelana previamente estabilizado en peso, se colocó 1 g de muestra y se registró su peso inicial (P1), luego el crisol se colocó en una mufla a 550 °C ± 5 °C durante 4 horas hasta la incineración de la muestra. Al finalizar este tiempo, el crisol se retiró cuando la temperatura interna de la mufla bajó a 200 °C ± 5 °C y se colocó en un desecador para enfriar, una vez frío, se pesó con las cenizas y se registró el peso final (P2); finalmente, el porcentaje de cenizas se calculó mediante la siguiente ecuación (Eq.3):

Eq. 3

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{P_2 - P_1}{\text{Gramos de Muestra}} \times 100$$



3.2.3 Grados Brix

La determinación de los grados Brix es un método útil para medir la concentración de azúcares en una muestra. En este caso, se seleccionaron aleatoriamente tres trozos de la sección que conecta la hoja con el corazón del agave, los cuales fueron exprimidos para obtener una muestra líquida. Antes de realizar las mediciones, se calibró el refractómetro óptico utilizando agua destilada, luego de limpiar cuidadosamente el prisma, se colocó una gota de la muestra líquida sobre el mismo. Se cerró la tapa del prisma para asegurar una distribución uniforme de la muestra y, a continuación, se observó a través del ocular, al visualizar la línea de separación entre las áreas claras y oscuras, se leyó el valor correspondiente a los grados Brix. Este valor indica el porcentaje de sólidos solubles presentes en la muestra, lo que equivale a la cantidad de gramos de sacarosa en 100 ml de la muestra a temperatura ambiente en un rango de entre 18°C a 24°C.

3.2.4 Proteína cruda

Para determinar el contenido de proteína cruda en penca y bagazo, se aplicó la metodología de la AOAC (2023), específicamente el método 2001.11. Este procedimiento se fundamenta en extraer el nitrógeno total presente en la muestra mediante una digestión inicial con ácido sulfúrico (H_2SO_4), seguida de una destilación para purificar el nitrógeno y, finalmente, una titulación para cuantificar su cantidad. Dado que la mayoría de las proteínas en este tipo de material contienen aproximadamente un 16% de nitrógeno (Mæhre *et al.*, 2018), se utiliza un factor de conversión para calcular el porcentaje de proteína cruda.

En la prueba, se empleó 0.1 g de muestra junto con 0.3 g de reactivo de selenio en un matraz de Kjeldahl (matraz de digestión). Se añadieron 2 ml de H_2SO_4 y se llevó a ebullición constante durante aproximadamente una hora, después, en la fase de destilación, se incorporaron 25 ml de agua destilada (H_2O) y 10 ml de una solución de hidróxido de sodio al 40% (NaOH), ajustando el volumen a 30 ml en un vaso de precipitados donde previamente se habían añadido 10 ml de ácido bórico (H_3BO_3) y 3 gotas de indicador Merck 5, a continuación, se tituló con una solución de ácido clorhídrico (HCl) 0.02 N hasta observar un cambio de color de verde a morado, se registró el volumen de HCl utilizado y se calculó el porcentaje de nitrógeno total, posteriormente, al resultado se le realizó un ajuste para determinar el porcentaje de proteína cruda, mediante la siguiente ecuación (Eq.4):

Eq. 4

$$\% N = \frac{(ml \text{ de } HCl)(N \text{ del } HCl)(0.014)}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$
$$\% P.C. = \% N \times 6.25$$

3.2.5 Grasa cruda

El porcentaje de grasa cruda en penca y bagazo, fue determinada siguiendo la metodología de la Asociación de Químicos Agrónomos Oficiales (AOAC, 2023) específicamente el método 920.39. Este método se basa en el uso de solventes orgánicos que, mediante evaporación, logran extraer los lípidos no hidrosolubles de la muestra y depositarlos en un recipiente que permite su pesaje.

Se comenzó pesando un trozo de papel filtro, sobre el cual se colocaron 1.5 g de la muestra, el papel filtro se enrolló de modo que pudiera ser colocado dentro de un dedal de celulosa en el equipo Soxhlet, en la base del equipo se colocó un matraz de fondo plano previamente estabilizado en peso (P1), luego, se añadieron 70 ml de éter de petróleo (C_6H_{14}) en la taza del equipo, que se instaló y se dejó en proceso de extracción por 2 horas, tras esto, se retiraron los matraces y se secaron hasta alcanzar un peso constante; luego, fueron colocados en un desecador para enfriar durante 15 minutos, finalmente, se registró el peso final del matraz (P2) y se calculó el porcentaje de grasa cruda usando la ecuación (Eq. 5):

Eq. 5

$$\% G.C. = \frac{(P_2 - P_1)}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

3.2.6 Fibra cruda

La determinación de fibra cruda en penca y bagazo, fue determinada siguiendo la metodología de la Asociación de Químicos Agrónomos Oficiales (AOAC, 2023) específicamente el método 978.10. Este método se basa en realizar un pretratamiento ácido seguido de uno básico para eliminar todos los compuestos que no forman parte de la matriz de fibra cruda del material, después de una serie de lavados, se retira la humedad y se incineran los compuestos orgánicos e inorgánicos volátiles que hayan resistido el tratamiento previo y los lavados.

Para el análisis, se pesó 1 g de la muestra desengrasada y se colocó en un vaso Berzelius de 600 ml junto con 200 ml de H_2SO_4 0.255 N caliente. El vaso se calentó hasta ebullición y se mantuvo así durante 30 minutos, a continuación, se retiró y filtró el contenido usando una tela, enjuagando el filtrado con agua caliente, después el residuo se transfirió a otro vaso con 200 ml de NaOH 0.313 N caliente, donde se llevó nuevamente a ebullición durante 30 minutos, al finalizar, el vaso fue retirado, filtrado y el residuo se lavó otra vez con agua caliente, el remanente se secó en un horno a $105\text{ }^\circ\text{C} \pm 5\text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 horas, se enfrió en un desecador, y se registró su peso (P_1), posteriormente el residuo se incineró a $550\text{ }^\circ\text{C} \pm 10\text{ }^\circ\text{C}$ por 4 horas, se dejó enfriar en un desecador durante 15 minutos, y se registró el peso final (P_2). Finalmente, se calculó el porcentaje de fibra cruda usando la ecuación correspondiente (Eq. 6).

Eq. 6

$$\% F.C. = \frac{(P_1 - P_2)}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

3.2.7 Fibra Detergente Neutra

Para la determinación de fibra detergente neutra (FDN) de penca y bagazo, se adaptaron algunos pasos de la metodología desarrollada por Ankom Technology (2006). Se aprovecharon algunos principios de esta metodología para trabajar sin necesidad de adquirir los reactivos de esta marca o equipos especializados, lo cual permitió hacer ajustes que optimizaron el procedimiento de Van Soest (1990), que fue base para este análisis.

Primero se preparó una solución detergente neutra (SDN), para la cantidad requerida se consideró el requisito de 100 ml de solución por cada bolsa que se desee analizar. A continuación, se mencionan las proporciones por litro: 30,0 g de lauril sulfato de sodio (SDS [$\text{NaC}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4$]), 18.61 g de EDTA disódico dihidratado ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2\text{H}_2\text{O}$), 6.81 g de tetraborato de sodio decahidratado ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{ H}_2\text{O}$), 4.56 g de fosfato disódico anhidro (Na_2HPO_4) y 10 ml de trietilenglicol ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_4$).

Para iniciar con el ensayo se emplearon las bolsas Ankom F57, las cuales fueron etiquetadas y pesadas vacías (P_1) con dos bolsas por muestra y al menos una bolsa de blanco (P_{bc01}). Luego, en base seca, se pesaron 0.5 g de muestra y se colocaron en cada bolsa, que se sellaron con calor para prevenir cualquier pérdida.



Se agregaron 2 L de SDN en un vaso de precipitados, junto con 4 ml de alfa amilasa termoestable, y la solución se calentó a temperatura de ebullición antes de introducir las bolsas con las muestras, para asegurar el contacto constante de la SDN con el material, se colocó una barra agitadora en el fondo del vaso, manteniéndola en funcionamiento continuo. Las bolsas se sometieron a digestión en esta solución durante 1 hora, pasado el tiempo, se eliminó la solución y se agregaron 2 L de agua destilada caliente con 4 ml de alfa amilasa, sometiendo a agitación constante por 5 minutos; este proceso se repitió dos veces más. Tras los lavados con agua y alfa amilasa, se presionaron las bolsas contra el fondo del vaso para extraer la mayor cantidad de agua posible y retirándola, luego, se cubrieron las bolsas con acetona (C_3H_6O) en un lavado por inmersión de 3 minutos, y nuevamente se presionaron las bolsas contra el fondo para eliminar el exceso de acetona. Las bolsas se dejaron secar a temperatura ambiente por 20 minutos y se colocaron en el horno a 105 °C por 24 horas. Finalmente, las bolsas se enfriaron en un desecador y se registraron los pesos de las bolsas con muestra (P2) y de la bolsa de blanco (Pbco2). El porcentaje de fibra detergente neutra (FDN) se calculó usando la ecuación (Eq. 7):

Eq. 7

$$\% FDN = \frac{P_2 - \left(P_1 \left(\frac{P_{bco_1} + P_{bco_2}}{2} \right) \right)}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

3.2.8 Fibra Detergente Ácida

Para determinar la fibra detergente ácida (FDA) de las muestras de penca y bagazo se continuó aplicando la metodología de Van Soest (1990) con adaptaciones de Ankom Technology (2006). La determinación de FDA se realizó después de la FDN, utilizando las mismas bolsas Ankom F57 empleadas en el ensayo anterior.

Como primer punto se preparó la solución detergente ácida (SDA), para la cantidad requerida se consideró el requisito de 100 ml de solución por cada bolsa que se desee analizar. A continuación, se mencionan las proporciones por litro: 20 g de bromuro de cetil trimetilamonio (CTAB o Cetrimida [$C_{19}H_{42}BrN$]) y 27.7 ml de ácido sulfúrico concentrado.

Como en el análisis de FDN, se vertieron 2 L de SDA en un vaso de precipitados, calentando la solución a temperatura de ebullición antes de introducir las bolsas con las muestras, para asegurar un contacto continuo entre la SDA y el material de las muestras, se colocó una barra agitadora en el fondo del vaso de precipitados, manteniéndola en funcionamiento constante. Las bolsas se sometieron a digestión en esta solución durante 1 hora, al finalizar, se decantó la SDA y se añadió agua destilada caliente en el mismo vaso, agitándola por 5 minutos; el proceso se repitió hasta alcanzar un pH neutro en el agua eliminada, después de los lavados con agua, se presionaron las bolsas en el fondo del vaso con un vaso Berzelius para extraer la mayor cantidad posible de agua, asegurando su retiro inmediato, luego, se cubrieron completamente las bolsas con acetona en un lavado por inmersión de 3 minutos, y se presionaron nuevamente contra el fondo del vaso para eliminar el exceso de acetona. Las bolsas se dejaron secar al aire durante 20 minutos y luego se colocaron en el horno a 105 °C por 24 horas, una vez finalizado el secado, las bolsas se enfriaron en un desecador y se registraron los pesos de las bolsas con muestra (P3) y de la bolsa de blanco (Pbc3). El porcentaje de fibra detergente ácida se calculó mediante la siguiente ecuación (Eq. 8):

Eq. 8

$$\% FDA = \frac{P_3 - \left(P_1 \left(\frac{P_{bco_1} + P_{bco_3}}{2} \right) \right)}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

3.2.9 Lignina

Para determinar lignina de las muestras de penca y bagazo se continuó aplicando la metodología de Van Soest (1990) con adaptaciones de Ankom Technology (2006). La determinación de lignina se realizó después de la FDA, utilizando las mismas bolsas Ankom F57 empleadas en el ensayo anterior.

Para comenzar la determinación de lignina, se preparó una solución de H₂SO₄ al 72% en peso, para ello, se añadieron 1200 g de ácido sulfúrico concentrado a 440 ml de agua destilada, permitiendo que la solución se enfriara progresivamente entre adiciones y con las medidas de seguridad adecuadas según naturaleza del reactivo, una vez lista la solución, se colocaron las bolsas de muestra en un vaso de precipitados de 2 L y se vertió



suficiente ácido concentrado para sumergirlas completamente, sobre las bolsas se situó un vaso de precipitados más pequeño, asegurando su inmersión total, cada 30 minutos utilizando el vaso pequeño se aplastaron las bolsas 30 veces, realizándolo por un periodo total de 3 horas. Al término del tiempo, las bolsas se enjuagaron con agua destilada caliente hasta que el agua de desecho alcanzó un pH neutro, después del enjuague con agua, se realizó un lavado con acetona, se cubrieron completamente las bolsas en acetona durante 3 minutos, eliminando luego el exceso por presión, las bolsas se dejaron secar al aire por 20 minutos y se colocaron en un horno a 105 °C por 24 horas. Al finalizar, se enfriaron en un desecador durante 20 minutos y se registró el peso (P4). El contenido de lignina se calculó utilizando la ecuación (Eq. 9):

Eq. 9

$$\% \text{ Lignina} = \frac{P_4 - P_1}{\text{Gramos de muestra}} \times 100$$

3.3 Caracterización biológica

La caracterización biológica incluye diversas técnicas y metodologías que permiten comprender las propiedades y comportamientos de materiales biológicos, en este estudio se eligió caracterizar los residuos de la industria mezcalera a través del aislamiento de microorganismo endófitos presentes en cada material, identificando su morfología macro y microscópica, adicionalmente se realizaron pruebas de actividad amilolítica a cada una de las cepas obtenidas para determinar cuáles de ellas producen amilasa como metabolito secundario. Estos análisis fueron realizados en las instalaciones del Tecnológico Nacional de México Campus Valle del Guadiana (ITVG), ubicado en las coordenadas [24°00'34"N 104°26'47"W].

3.3.1 Aislamiento

El aislamiento de microorganismos es un aspecto fundamental en microbiología, ya que permite comprender tanto la diversidad microbiana, como su funcionalidad (Gschaedler *et al.*, 2017). En este estudio se emplearon técnicas microbiológicas convencionales y en algunos casos, se adaptaron y modificaron metodologías descritas previamente para ajustarse a la naturaleza específica de las muestras analizadas.



3.3.1.1 Mosto

Para la identificación de microorganismos presentes en el mosto de bagazo de agave mezcalero, se tomó una alícuota de la muestra previamente recolectada y se sembró por extensión en placa Petri, con un medio de agar nutritivo, todo esto por triplicado, se incubó a 37°C, durante 72 horas.

Tras este proceso, se identificaron las colonias más abundantes o recurrentes mediante observación directa, prestando especial atención a aquellas que presentaban características distintivas. Una vez seleccionadas, se procedió a su resiembra con el objetivo de separarlas y facilitar su aislamiento. Para este paso, se utilizó el mismo medio de cultivo, empleando la técnica de estriado, y las muestras fueron incubadas a 37 °C durante 24 horas.

3.3.1.2 Bagazo

En la identificación de microorganismos presentes en el bagazo de agave mezcalero, se cortaron fibras de distintos tamaños, colores y calibres a una longitud de 1 cm y se sembraron por contacto directo en caja Petri, por triplicado, con medio de agar nutritivo tomando una distribución en forma de un cuadro de 1 cm por 1 cm, se incubó a una temperatura de 37°C durante 72 horas.

Una vez confirmado el crecimiento bacteriano, se realizó una resiembra con el propósito de separar las colonias y facilitar su aislamiento. Para ello, se empleó el mismo medio de cultivo y se utilizó la técnica de estriado. Las muestras fueron posteriormente incubadas a 37 °C durante 24 horas.

3.3.1.3 Penca

Preparación de la muestra

Se seleccionaron dos áreas de cada hoja (sección superior e inferior), con apariencia sana y se tomaron trozos hasta completar un peso 25 gr.

Se siguieron las recomendaciones de Aguado-Santacruz *et al.* (2022), se inició desinfectando las muestras para eliminar microorganismos patógenos que se presentaran durante la manipulación y traslado, por lo que se realizó un primer lavado directo en el grifo,

seguido de inmersión en una solución de etanol al 70% durante 1 min y a continuación en una de hipoclorito de sodio al 3% durante dos minutos, finalmente se lavaron las muestras tres veces con agua destilada estéril y se colocaron en servilletas previamente esterilizadas

Aislamiento de microorganismos

Para el aislamiento de microorganismos endófitos, las muestras desinfectadas se trituraron, con ayuda de un bisturí, en secciones más pequeñas y se introdujeron a un matraz con 50 ml de caldo nutritivo (un matraz por cada hoja colectada), se incubaron a una temperatura de 23°C a 120 rpm durante 72 horas (Figura 1). Pasado este tiempo se tomó una alícuota que se sembró por extensión en placa en agar nutritivo, por duplicado y se incubó a 30°C durante 48 horas.

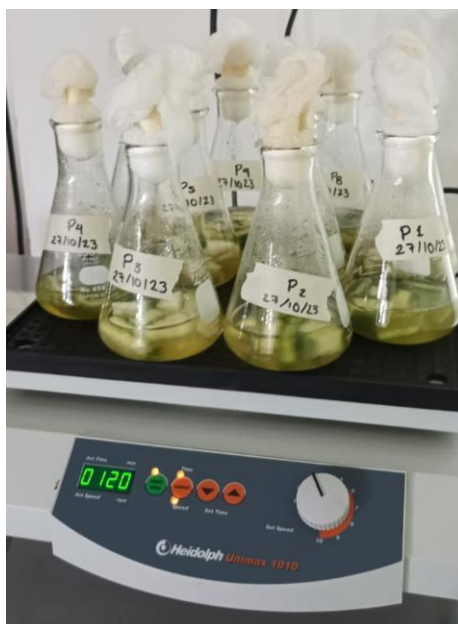


Figura 1. Aislamiento de microorganismos endófitos en penca de agave. Penca triturada en un matraz con 50 ml de caldo nutritivo, incubado a una temperatura de 23°C a 120 rpm durante 72 horas.



3.3.1.4 *Penca endodermis*

Preparación de la muestra

Se seleccionaron dos áreas de cada hoja (sección superior e inferior), con apariencia sana, se cortaron cubos de 1 cm por 1 cm de cada sección.

Para el pretratamiento se siguió las recomendaciones de Aguado-Santacruz *et al.* (2022), se inició desinfectando las muestras para eliminar microorganismos patógenos que se presentaran durante la manipulación y traslado, por lo que se realizó un primer lavado directo en el grifo, seguido de inmersión en una solución de etanol al 70% durante 1 min y a continuación en una de hipoclorito de sodio al 3% durante dos minutos, finalmente se lavaron las muestras tres veces con agua destilada estéril y se colocaron en servilletas previamente esterilizadas

Aislamiento de microorganismos

Para el aislamiento de microorganismos ubicados en la endodermis, a las muestras desinfectadas con ayuda de un bisturí se les retiró la epidermis y se sembraron por contacto directo en caja Petri con medio de agar nutritivo (dos cubos por cada placa, sección superior e inferior de la hoja) como se muestra en la Figura 2, todo esto por triplicado y se incubaron a una temperatura de 30°C por un lapso de 72 horas.

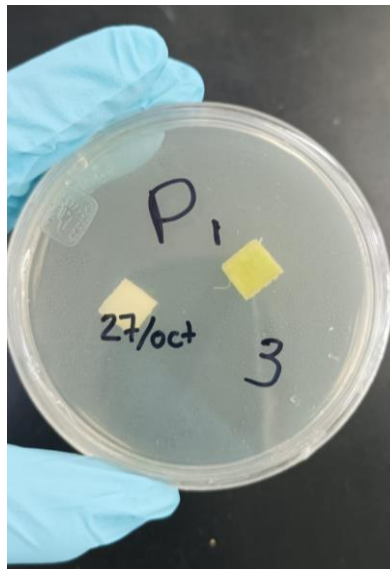


Figura 2. Aislamiento de microorganismos ubicados en la endodermis de penca de agave. Cubos de endodermis de penca sembrados por contacto directo en caja Petri con agar nutritivo.

A continuación, se observaron las placas Petri para identificar visualmente las cepas presentes. Se realizó una resiembra evitando duplicar aquellas que, a nivel macroscópico, presentaban características similares, con el objetivo de separar las colonias y favorecer su aislamiento, este proceso se llevó a cabo en el mismo medio de cultivo, utilizando la técnica de estriado en duplicado. Las muestras fueron incubadas a 30 °C durante 24 horas.

3.3.2 Morfología microbiana

Caracterización morfológica

La caracterización morfológica macroscópica de todos los microorganismos aislados se realizó con apoyo de los parámetros: tamaño, forma, borde, elevación, superficie, consistencia, aspecto y color de las colonias desarrolladas en placas Petri conteniendo agar nutritivo (Rojas-Triviño, 2011). Para la caracterización microscópica se llevó a cabo la tinción diferencial de Gram de cada aislado.



3.3.3 Actividad amilolítica

Identificación de cepas con actividad amilolítica

Para determinar la actividad amilolítica de las cepas se adaptó la metodología usada por Barua *et al.* (2021), en la cual las colonias de todos los microorganismos aislados previamente fueron inoculadas por estriado en placas Petri conteniendo agar nutritivo con almidón soluble (10g/L) y se incubaron a 30°C durante 48 h. Posteriormente, cada placa fue cubierta con solución Yodo Gram durante 5 min y se seleccionaron los aislamientos cuyas colonias presentaron un halo de clarificación alrededor indicando la hidrólisis del almidón.

3.3.4 Conservación de las cepas

Para conservar las cepas obtenidas, se seleccionó un método adecuado basado en los recursos materiales y las instalaciones disponibles. La conservación de cepas bacterianas en glicerol es una técnica ampliamente utilizada y eficaz para mantener la viabilidad bacteriana a largo plazo, ya que el glicerol actúa como crioprotector al prevenir la formación de cristales de hielo que podrían dañar las células.

El procedimiento inició con la preparación de una solución estéril de glicerol al 20% (v/v) en agua destilada. En un tubo Eppendorf estéril, se depositaron 0.5 ml de esta solución, posteriormente, utilizando un asa estéril, se raspó una cantidad adecuada de bacterias desde la superficie del medio de cultivo, asegurando recolectar una cantidad significativa de células macroscópicas, las cuales se resuspendieron en el tubo, el cual fue sellado herméticamente para evitar la evaporación y luego almacenado bajo refrigeración.

Recuperación de la cepa

Para reactivar la cepa conservada, se debe agitar suavemente el tubo para homogeneizar la suspensión bacteriana, a continuación, se toma una pequeña alícuota de la solución y se inocular en un medio de cultivo fresco, una vez transferidas a un entorno nutritivo, las bacterias retomarán su crecimiento normal.

3.4 Carbón activado

La metodología propuesta para la elaboración de carbón activado (CA) a partir de fibras de bagazo de agave mezcalero, se llevó a cabo en las instalaciones del Instituto de Silvicultura



e Industria de la Madera (ISIMA), ubicado en las coordenadas [24°00'41"N 104°41'23"W]. Esta propuesta adapta y simplifica procedimientos existentes, tanto aquellos que utilizan materiales lignocelulósicos como materia prima, como los que emplean otras especies de agave.

El proceso inició con el secado del bagazo de agave previamente recolectado, el cual se expuso directamente al sol durante una semana, una vez seco se trituró hasta obtener partículas de aproximadamente 1 cm de longitud, posteriormente el material triturado se sometió a una carbonización en crisoles de porcelana colocados en un horno de mufla estándar Thermolyne 1300 FB1310M-33, a una temperatura de 350°C durante 1 hora. El carbón resultante se dejó enfriar, se molió en un mortero y se sometió a una activación química, para esta etapa, el carbón molido se depositó en un vaso de precipitados y se cubrió completamente con una solución de ácido fosfórico (H_3PO_4) al 85% v/v, dejándolo reposar durante 24 horas, transcurrido este tiempo, el contenido del vaso se filtró utilizando una bomba de vacío y papel filtro, recuperando el agente activante (H_3PO_4) para reutilizarse en futuras activaciones, el carbón filtrado se secó en una estufa de secado a 105°C durante 24 horas, a continuación, se realizó la activación térmica, introduciendo nuevamente el carbón en la mufla a una temperatura de 450°C durante 1 hora, una vez enfriado y retirado de la mufla, se lavó con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) a una concentración de 0.313 N hasta alcanzar un pH neutro, finalmente, el carbón se dejó secar al aire en una campana de flujo laminar durante 72 horas.

3.4.1 Evaluación de la calidad del CA

3.4.1.1 Pruebas de adsorción

Para llevar a cabo las pruebas de adsorción, se prepararon previamente soluciones de naranja de metilo con concentraciones conocidas, que iban desde 0.2 hasta 2 mg/L. Los valores de absorbancia se determinaron mediante el método de curva de calibración utilizando un espectrofotómetro UV/VIS SPECTROPHOTOMETER VE-5600UV PC, y longitud de onda de 465 nm.

En un tubo de ensayo se colocaron 0.5 g del CA obtenido, junto con 25 ml de una solución de naranja de metilo a una concentración de 25 mg/L. La mezcla se agitó durante 60 segundos (Figura 3), este procedimiento se realizó en triplicado. Posteriormente, el CA fue

filtrado con papel filtro de 120 mm, y el líquido resultante se transfirió a una celda de cuarzo para su análisis en el espectrofotómetro.

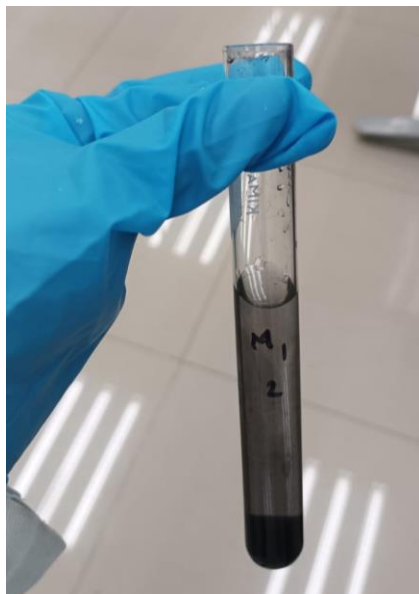


Figura 3. Solución de naranja de metilo y CA agitado durante 60 segundos.

Como método comparativo, se llevó a cabo el mismo procedimiento con dos tipos de carbón activado comerciales, denominados para fines prácticos como CAP y CAC.

3.4.1.2 Morfología por microscopio confocal de fluorescencia por barrido laser

Para analizar el carbón activado (CA) mediante un microscopio confocal de fluorescencia por barrido laser Leica DMI 8 – Leica TCS SP8 (CLSM por sus siglas en inglés), fue necesario teñirlo previamente, ya que carece de fluorescencia natural. Para ello, se preparó una solución de azul de metileno a una concentración de 10 mg/L, a esta solución se añadieron 0.5 g de CA, y la mezcla se agitó durante 60 segundos, transcurrido este tiempo, se filtró utilizando papel filtro de 120 mm y posteriormente se llevó a una estufa de secado por 3 horas.

Para fijar el CA teñido al portaobjetos, se distribuyó una pequeña cantidad de muestra formando una fina capa, seguidamente, se añadió una gota de glicerol sobre el CA y se colocó un cubreobjetos encima, para asegurar la fijación del cubreobjetos, los bordes se sellaron con esmalte transparente, una vez seco, se procedió a la observación del preparado en el microscopio confocal a una longitud de onda de entre 600 y 700 nm.



Capítulo 4

Resultados y discusiones

4.1 Caracterización química

Los resultados obtenidos en la caracterización química se muestran en la Tabla 1. Se analizaron muestras de penca, bagazo y mosto de bagazo de agave mezcalero; sin embargo, las únicas muestras que se sometieron a todas las pruebas fueron la penca y el bagazo. Además, se analizó el contenido de grados Brix en la base de las pencas que conecta con el corazón de la planta.



Tabla 1. Composición química de penca, bagazo y mosto de bagazo de agave mezcalero. Porcentaje de materia.

	Porcentaje de materia		
	Penca de <i>Agave durangensis</i>	Bagazo de <i>Agave durangensis</i>	Mosto de bagazo de <i>Agave durangensis</i>
Humedad	85.96	84.18	95.87
Desviación estándar	± 4.15	± 3.97	-
Cenizas	56.46	12.30	14.84
Desviación estándar	± 1.67	± 0.54	±
Grasa cruda	1.5186	1.0605	-
Desviación estándar	-	-	-
Proteína cruda	3.3727	3.4500	-
Desviación estándar	± 0.64	± 1	-
Fibra cruda	35.1128	15.2394	-
Desviación estándar	± 4.15	±0.67	-
Lignina	21.1943	43.0948	-
Desviación estándar	± 1.49	± 0.71	-
Celulosa	6.4771	19.1985	-
Desviación estándar	± 0.84	± 0.59	-
Hemicelulosa	10.9660	4.3461	-
Desviación estándar	± 3.91	± 1.43	-



En la determinación de grados Brix se obtuvo un valor de 22.8, lo que indica el porcentaje de sólidos solubles presentes en la muestra. Según Arreola *et al.* (2020), en un estudio sobre el efecto de la aplicación de mosto de caña de azúcar en la producción y calidad del *Agave tequilana Weber*, se reportó un valor de 27.3 grados Brix en plantas que no habían sido sometidas a ningún tratamiento. El hecho de que los valores obtenidos sean variables tiene sentido, ya que según lo reportado, el contenido de azúcares en las plantas depende de diversos factores, como la especie, edad, el manejo agrícola (por ejemplo, poda) y la época del año (Arreola *et al.*, 2020). Latsague *et al.* (2014) observaron que el contenido de azúcares se incrementa con una fertilización adecuada, especialmente debido a la disponibilidad de potasio. Además, este parámetro está estrechamente relacionado con la madurez de la planta y su eficiencia fotosintética, ya que los azúcares solubles acumulados son productos directos de ese proceso (García-Mendoza, 2007). El valor obtenido en grados Brix refleja, tanto las condiciones propias de la planta, como las prácticas de manejo y los factores ambientales.

La caracterización química de la penca y bagazo de agave muestra algunos de los componentes más importantes de estos materiales, con posibilidad de ser valorizados.

Como era de esperarse, la muestra con mayor contenido de humedad fue el mosto de bagazo, con un 95.87%, debido a su naturaleza líquida con sólidos suspendidos. Por otro lado, el bagazo de agave también presentó un elevado contenido de humedad (84.18%), ya que la muestra estaba en estado húmedo al ser recién extraída de las pilas de fermentación.

El mayor contenido de cenizas se observó en las muestras de penca de agave, con un 56.46%. Según Zúñiga-Estrada (2013), los nutrientes como nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) absorbidos por la planta se acumulan preferentemente en las hojas, lo que explica el alto contenido de cenizas en comparación con muestras procesadas, como el bagazo (12.30%) y el mosto (14.84%).

Los valores de grasa cruda obtenidos tanto en la penca como en el bagazo de agave coinciden con los reportados por Alonso y Rigal (1997) y Garza-Elizondo (2016), quienes analizaron muestras de *Agave tequilana Weber*.



En cuanto a la proteína cruda, Delgadillo *et al.* (2015) evaluaron el perfil de nutrientes del bagazo de agave como alternativa de alimento para rumiantes y reportaron valores de 2.25% en *Agave salmiana* y 2.73% en *Agave webery cea*. Estos resultados son ligeramente inferiores a los obtenidos en este trabajo, donde la penca y el bagazo alcanzaron valores de 3.37% y 3.45%, respectivamente. Sin embargo, dichos niveles son insuficientes para maximizar el metabolismo microbiano en el rumen, donde se estima que los niveles óptimos de proteína cruda deben estar entre 7% y 8%. A pesar de ello, se han propuesto alternativas para incrementar el contenido de proteína cuando el material se utiliza con fines de alimentación (Delgadillo *et al.*, 2015).

Los valores de fibra cruda en la penca y el bagazo de agave mostraron diferencias significativas. La penca presentó un contenido de fibra cruda más del doble que el bagazo, con 35.11% y 15.23%, respectivamente. Al comparar el contenido de fibra cruda del bagazo con los valores reportados por Delgadillo *et al.* (2015) para *Agave salmiana* (22.15%) y *Agave webery cea* (16.58%), se observa que este resultado es ligeramente inferior. Esto coincide con lo señalado por Gebretsadik *et al.* (2023), quienes mencionan que las propiedades de las fibras de agave son variables y dependen de factores como el origen, las condiciones climáticas, las propiedades del suelo y la madurez de las hojas.

En cuanto al contenido de lignina, el bagazo de agave alcanzó un 43.09%, un valor superior a los reportados por Alonso y Rigal (1997) y Garza-Elizondo (2016) para *Agave tequilana* Weber (15% y 19.5%, respectivamente), así como al valor de 20.69% reportado por Hidalgo-Reyes *et al.* (2015) en *Agave angustifolia*.

Respecto a la celulosa, el contenido encontrado (19.19%) fue menor al reportado por Alonso y Rigal (1997) y Garza-Elizondo (2016) (43% y 56%, respectivamente), y también al 48.04% obtenido por Hidalgo-Reyes *et al.* (2015). Por otro lado, el contenido de hemicelulosa en el bagazo (4.34%) resultó inferior a los valores registrados por Alonso y Rigal (1997) y Garza-Elizondo (2016) (19% y 24.5%, respectivamente) y al 34.08% reportado por Hidalgo-Reyes *et al.* (2015).

Es importante señalar que estas diferencias pueden atribuirse a las variaciones entre especies. Otros factores como el entorno ambiental y el manejo previo de las muestras, también pueden influir significativamente en los resultados.



4.2 Caracterización biológica

La caracterización precisa de las bacterias analizadas es fundamental, ya que proporciona información clave para la identificación inicial de los géneros bacterianos. Es importante destacar que cada género presenta características distintivas que permiten diferenciarlo de otros, sin embargo, para una identificación completa y confiable, la caracterización de un aislamiento debe complementarse con otros tipos de marcadores como los bioquímicos, serológicos y moleculares, estos análisis adicionales son esenciales para determinar de manera definitiva tanto el género como la especie (Rojas-Triviño, 2011).

4.2.1 Morfología microbiana

Cuando los microorganismos crecen en medios de cultivo, muestran variaciones en la apariencia macroscópica de su crecimiento, conocidas como "características culturales". Estas diferencias constituyen una base fundamental para agruparlos en categorías taxonómicas (Rojas-Triviño, 2011). Las características culturales de los microorganismos documentados se encuentran registradas en el manual *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* y se determinan mediante su cultivo en agar nutritivo inclinado, placas Petri, caldo nutritivo y gelatina nutritiva.

Mosto

A partir de la muestra de mosto de bagazo de agave recolectada, se realizó una siembra por extensión en placas Petri con medio sólido, posteriormente, se seleccionaron y resembraron las cepas, obteniendo un total de siete cultivos, ejemplo de ello se puede observar en la Figura 4.

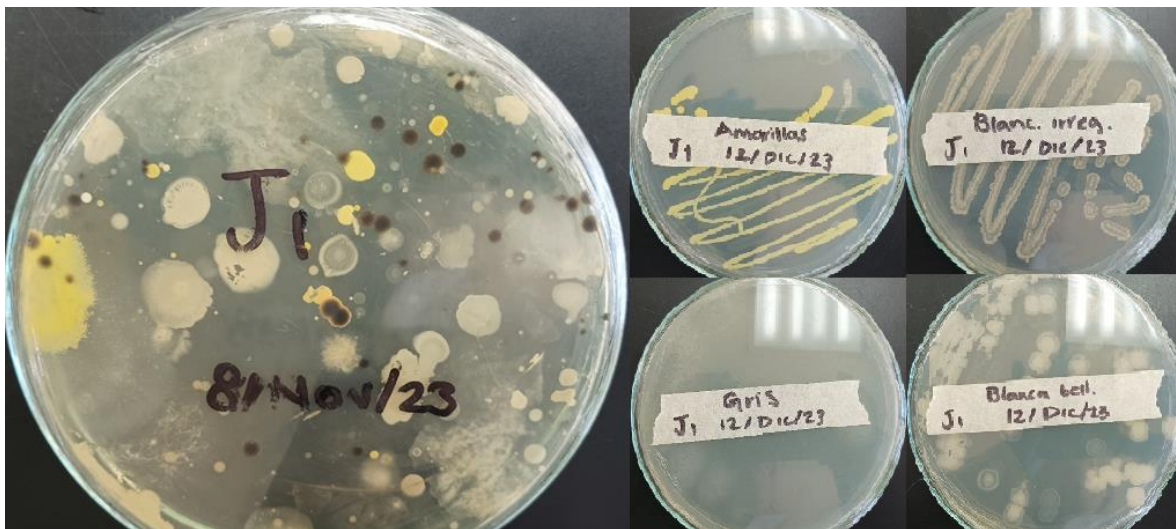


Figura 4. A: Cultivo de mosto de bagazo de agave. B, C, D y E: Cepas seleccionadas y resembradas a partir de la caja A.

De cada aislamiento se registraron sus características morfológicas, tanto macroscópicas como microscópicas, las cuales se presentan en la Tabla 2. Las cepas fueron designadas con la letra "J" seguida de un número, correspondiente a la repetición de la que fueron tomadas, omitiendo aquellas que, macroscópicamente, mostraban características similares. Además, se añadieron iniciales para facilitar su identificación y el manejo de la información.



Tabla 2. Características morfológicas de los aislados bacterianos obtenidos del mosto de bagazo de agave, cultivados en placas Petri con agar nutritivo y clasificados según la tinción de Gram.

	Características morfológicas en placa								Tinción gram
	Tamaño Ch-M-G	Forma	Borde	Elevación	Superficie	Consisten- cia	Aspecto	Pigmento	Gram (+ -) Forma
Muestra									
J1 am	G	Circular	Entero	Umbilicada	Lisa	Mucoide	Brillante	Amarillo	▪ Bacilo + ▪ Bacilo-
J1 gr	G	Filamentosa	filamentoso	convexa	Rugosa	Blanda	Mate	Gris	▪ Bacilo -
J1 bi	G	Irregular	Ondulado	Elevada	Rugosa	Blanda	Mate	Blanco	▪ Bacilo -
J1 bv	G	Irregular	Ondulado	Convexo	Rugosa	Blanda	Brillante	Blanco (filamentos)	▪ Cocos + ▪ Bacilos -
J3 be	G	Circular	Entero	Convexa	Lisa	Blanda	Brillante	Beige	▪ Bacilos + ▪ Bacilos -
J3 bl	G	Irregular	Ondulado	Elevada	Rugosa	Dura	Mate	Blanco (filamentos)	▪ Cocos + ▪ Cocos -
J3 am	G	Circular	Entero	Umbilicada	Lisa	Mucoide	Brillante	Amarillo	▪ Bacilos + ▪ Bacilos -



Los aislados bacterianos mostraron variaciones notables en sus características morfológicas, incluyendo forma, borde, elevación, superficie, consistencia, aspecto y pigmentación. Se observaron formas circulares (J1 am, J3 am, J3 be), irregulares (J1 bi, J1 bv, J3 bl) y una filamentosa (J1 gr), lo que evidencia una amplia diversidad morfológica. La pigmentación varió entre tonos amarillo (J1 am, J3 am), beige (J3 be), blanco con filamentos (J1 bv, J3 bl) y gris (J1 gr). Según la literatura, la pigmentación bacteriana está relacionada con interacciones complejas que involucran color con actividad biológica y función ecológica (Afra *et al.*, 2017; Syaifudin & Sutrisno, 2022).

Los aislados mucoides, como J1 am y J3 am, podrían ser indicativos de una mayor producción de exopolisacáridos, un factor relevante en interacciones planta-microorganismo (Nwodo *et al.*, 2012; Nanjani, 2012). Por otro lado, los aislados con superficies rugosas, como J1 bi, J1 bv y J3 bl, podrían reflejar diferencias en la composición de la superficie celular, lo que potencialmente afecta la adherencia o resistencia a condiciones ambientales adversas (Bakker *et al.*, 2004).

En términos de tinción de Gram, se identificaron bacterias Gram positivas y negativas, lo que evidencia la coexistencia de ambos tipos de paredes celulares. Aislados como J1 am, J3 am y J3 be presentaron tanto bacilos Gram positivos como negativos, lo que sugiere posibles interacciones simbióticas o dificultades en la separación de especies durante el aislamiento. Asimismo, en J1 bv y J3 bl se observaron cocos Gram positivos y negativos, resaltando la diversidad estructural incluso dentro de un mismo aislamiento. Estas comunidades bacterianas podrían desempeñar un papel crucial en procesos como la fermentación o la degradación de compuestos orgánicos (Aguado-Santacruz *et al.*, 2022; Gallardo-Martínez *et al.*, 2024).

Bagazo

A partir de las muestras recolectadas de bagazo de agave, se realizaron siembras por contacto directo en un medio sólido, seguido de una resiembra. Este proceso permitió obtener tres cultivos, cuyas características morfológicas, tanto macroscópicas como



microscópicas, se documentaron (Tabla 3). Los cultivos fueron identificados con la letra "B" y numerados del 1 al 3.



Tabla 3. Características morfológicas de los aislados bacterianos obtenidos del bagazo de agave, cultivados en placas Petri con agar nutritivo y clasificados según la tinción de Gram.

	Características morfológicas en placa								Tinción gram
	Tamaño Ch-M-G	Forma	Borde	Elevación	Superficie	Consisten- cia	Aspecto	Pigmento	Gram (+ -) Forma
Muestra									
B1	G	Irregular	Lobulado	Elevada	Lisa	Blanda	Brillante	Blanco	▪ Cocos +
B2	G	Irregular	Ondulado	Elevada	Rugosa	Blanda	Mate	Blanco amarillo	▪ Bacilos -
B3	G	Irregular	Lobulado	Elevada	Lisa	Blanda	Brillante	Blanco	▪ Cocos +



Las muestras analizadas exhiben una notable diversidad en sus características morfológicas observadas en placa, lo que refleja variaciones significativas entre las colonias bacterianas. La forma irregular de las tres muestras, acompañada de bordes lobulados u ondulados, sugiere una capacidad de adaptación a las condiciones del medio. Todas presentan una consistencia blanda, típica de bacterias que prosperan en medios ricos en nutrientes. Las superficies lisas observadas en B1 y B3, en contraste con la rugosidad de B2, podrían estar relacionadas con diferencias en la composición de la cápsula o la pared celular, factores que podrían influir en su posible capacidad patógena. (Rojas-Triviño, 2011).

En cuanto a la pigmentación, el blanco característico de B1 y B3, frente al blanco amarillento de B2, podría estar vinculado a variaciones en la producción de metabolitos secundarios, actividades antimicrobianas o diferencias en la función biológica de cada aislamiento (Srilekha *et al.*, 2017; Usman *et al.*, 2017; Azman *et al.*, 2018; Patel *et al.*, 2020).

La tinción de Gram reveló que las muestras B1 y B3 corresponden a cocos Gram positivos, caracterizados por una pared celular gruesa compuesta principalmente de peptidoglicano, lo que les otorga resistencia a ciertas condiciones ambientales. Por otro lado, B2 resultó ser un bacilo Gram negativo, cuya pared celular más delgada, pero protegida por una membrana externa, podría conferir mayor resistencia frente a antibióticos y agentes externos (Rojas-Triviño, 2011).

Penca

A partir de las muestras de hojas de *Agave durangensis*, se lograron obtener 10 cultivos en medio líquido, de los cuales se registraron sus características morfológicas (Tabla 4). Posteriormente, de cada cultivo se obtuvo un aislado bacteriano en medio sólido. Los aislados fueron identificados con la letra "M" y numerados del 1 al 10.



Tabla 4. Características morfológicas de los aislados bacterianos obtenidos de la penca de agave, cultivados en medio líquido de caldo nutritivo (✓ cumple con el criterio).

	Características morfológicas en medio líquido		
	Turbidez (1-5)	Película	Sedimento
Matraz			
M1	5	✓	
M2	2		✓
M3	3		
M4	5	✓	✓
M5	4	✓	
M6	3		
M7	3	✓	
M8	5	✓	✓
M9	2		
M10	2		

Las características morfológicas macro y microscópicas de las 10 cepas aisladas en medio sólido se detallan en la Tabla 5.



Tabla 5. Características morfológicas de los aislados bacterianos obtenidos de la penca de agave, cultivados en placas Petri con agar nutritivo y clasificados según la tinción de Gram.

	Características morfológicas en placa								Tinción gram
	Tamaño Ch-M-G	Forma	Borde	Elevación	Superficie	Consisten- cia	Aspecto	Pigmento	Gram (+ -) Forma
Muestra									
M1	G	Irregular	Ondulado	Plana	Rugosa	Blanda	Translucido	Blanco	▪ Cocos + ▪ Bacilos -
M2	G	Puntiforme	Ondulado	Convexa	Lisa	Mucoide	Brillante	Amarillo	▪ Cocos +
M3	G	Irregular	Ondulado	Plana	Lisa	Blanda	Translucido	Blanco	▪ Cocos + ▪ Bacilos -
M4	G	Puntiforme	Ondulado	Convexa	Lisa	Mucoide	Brillante	Amarillo	▪ Estreptococo + ▪ Estreptobacilos -
M5	G	Irregular	Ondulado	Convexa	Rugosa	Blanda	Brillante	Blanca	▪ Cocos +
M6	G	Irregular	Ondulado	Plana	Rugosa	Blanda	Translucido	Blanco	▪ Cocos + ▪ Bacilos -
M7	G	Puntiforme	Ondulado	Convexa	Lisa	Mucoide	Brillante	Amarillo	▪ Cocos + ▪ Estreptobacilos -
M8	G	Irregular	Ondulado	Plana	Rugosa	Blanda	Translucido	Blanco	▪ Cocos + ▪ Bacilos -



	Características morfológicas en placa								Tinción gram
M9	G	Irregular	Lobulado	Plana	Lisa	Blanda	Translucido	Blanco	▪ Cocos + ▪ Bacilos -
M10	G	Puntiforme	Lobulado	Convexa	Lisa	Mucoide	Brillante	Amarillo	▪ Cocos + ▪ Bacilos -



Las diferencias morfológicas entre las colonias bacterianas observadas pueden ser indicativas de la diversidad microbiana asociada al *Agave durangensis*. Por ejemplo, las colonias M1, M3, M6, M8 y M9 comparten características similares como color blanco, borde ondulado, consistencia blanda, mientras que las colonias M2, M4, M7 y M10 muestran características que apuntan a una consistencia más mucoide y un color amarillo.

La tinción de Gram permite dividir las bacterias en dos grupos principales: Gram positivas (+) y Gram negativas (-). En este caso, varias de las cepas presentan combinaciones de cocos y bacilos, lo que podría sugerir la presencia de diferentes tipos de bacterias dentro de la misma muestra, lo que podría sugerir que el proceso de aislamiento no logró separar completamente especies bacterianas distintas o la existencia de relaciones simbióticas entre ellas.

Penca endodermis

Después de sembrar por contacto directo dos cubos de la endodermis de hojas de agave seleccionadas y de su incubación se obtuvieron crecimiento microbiano en ocasiones de apariencia similar y en otras distinta (Figura 5), por lo que se seleccionaron las cepas que a observación eran distintas y se resembraron.

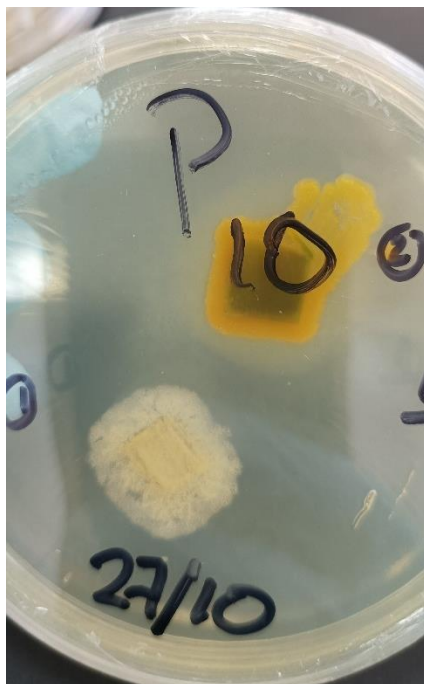


Figura 5. Cubos de endodermis de hoja de *Agave durangensis* sembrados en caja Petri con agar nutritivo y encubados a 30°C por un lapso de 72 horas.

A continuación, se presentan las características morfológicas macro y microscópicas de las cepas obtenidas (Tabla 6).



Tabla 6. Características morfológicas de los aislados bacterianos obtenidos de la endodermis de penca de agave, cultivados en placas Petri con agar nutritivo y clasificados según la tinción de Gram.

Muestra	Características morfológicas en placa								Tinción gram
	Tamaño Ch-M-G	Forma	Borde	Elevación	Superficie	Consistencia	Aspecto	Pigmento	Gram (+ -) Forma
P11(1)	G	Irregular	Ondulado	Elevada	Rugosa	Blanda	Mate	Blanco	▪ Bacilos-
P11(2)	G	Irregular	Ondulado	Elevada	Rugosa	Blanda	Mate	Blanco café translucido	▪ Bacilos - +
P13(1)	G	Irregular	Ondulado	Convexa	Rugosa	Blanda	Mate	Blanco	▪ Bacilos -
P13(2)	G	Circular	Continuo	Plana	Lisa	Blanda	Translucido	Amarillo	▪ Cocobacilos -
P22(1)	-	Puntiforme	Ondulado	Convexa	Rugosa	Dura	Brillante	Amarillo	▪ Estreptobacilo + ▪ Cocobacilo -
P22(2)	G	Filamento sa	Ondulado	Plana	Rugosa	Blanda	Translucido	Amarillo	▪ Coco + ▪ Cocobacilo -
P23(1)	G	Rizoide	Filamento so	Elevada	Rugosa	Blanda	Translucido	Blanco	▪ Estreptobacilo - +
P23(2)	G	Filamento sa	Lobulado	Convexa	Rugosa	Blanda	Mate	Blanco	▪ Cocobacilos -
P32(1)		Puntiforme	Continuo	Convexa	Lisa	Blanda	Brillante	Amarillo	▪ Cocobacilo -



	Características morfológicas en placa								Tinción gram
P33(2)	G	Irregular	Continuo	Plana	Lisa	Blanda	Translucido	Blanco	▪ Cocobacilos + -
P41(1)	G	Irregular	Ondulado	Elevada	Lisa	Blanda	Translucido	Amarillo	▪ Cocobacilo + ▪ Estreptobacilo -
P42(1)		Puntiforme	Ondulado	Convexa	Lisa	Blanda	Mate	Blanco	▪ Cocobacilo -
P51(1)	G	Circular	Continuo	Convexa	Lisa	Blanda	Brillante	Amarillo	▪ Cocobacilos + -
P51(2)	G	Irregular	Ondulado	Mamelonada	Rugosa	Duro	Brillante	Amarillo	▪ Cocobacilos -
P53(1)	M	Irregular	Ondulado	Convexa	Lisa	Blanda	Translucido	Amarillo	▪ Cocobacilo + -
P53(2)	G	Irregular	Ondulado	Convexa	Lisa	Blanda	Brillante	Amarillo	▪ Cocobacilo + -
P61(2)		Puntiforme	Ondulado	Pulvinada	Lisa	Mucoid e	Brillante	Blanco	▪ Cocos + -
P63(1)	G	Filamentosa	Filamento so	Elevada	Rugosa	Blanda	Mate	Blanco	▪ Cocobacilos -
P71(1)	G	Rizoide	Lobulado	Convexa	Rugosa	Blanda	Mate	Blanco	▪ Cocobacilos -
P72(1)	G	Rizoide	Filamento so	Elevada	Rugosa	Blanda	Translucido	Blanco	▪ Cocobacilo + -
P72(2)	G	Irregular	Ondulado	Convexa	Lisa	Blanda	Translucido	Blanco	▪ Cocos -
P73(1)	G	Irregular	Ondulado	Convexa	Lisa	Mucoid e	Translucido	Blanco	▪ Bacilos + -



	Características morfológicas en placa								Tinción gram
P81(1)	G	Circular	Ondulado	Convexa	Lisa	Mucoid e	Brillante	Blanco	▪ Cocos +
P81(2)	G	Irregular	Ondulado	Convexa	Lisa	Duro	Brillante	Blanco	▪ Cocos +
P82(1)	G	Irregular	Ondulado	Convexa	Lisa	Blando	Brillante	Blanco	▪ Bacilo + -
P83(1)		Puntiforme	Circular	Convexa	Lisa	Blando	Brillante	Blanco	▪ Estreptobacilo + -
P91(1)	G	Filamento sa	Filamento so	Elevada	Rugosa	Blando	Mate	Blanco	▪ Bacilos -
P92(1)	G	Circular	Continuo	Convexa	Lisa	Blando	Translucido	Blanco	▪ Bacilos + -
P92(2)	G	Circular	Continuo	Plana	Lisa	Blando	Translucido	Amarillo	▪ Bacilos -
P93(2)	G	Irregular	Filamento so	Elevada	Lisa	Blando	Brillante	Blanco	▪ Bacilos + ▪ Cocobacilos -
P101 (1)		Puntiforme	Continuo	Convexa	Lisa	Mucoid e	Brillante	Amarillo	▪ Cocobacilos -
P101 (2)	G	Rizoide	Filamento so	Elevada	Rugosa	Duro	Translucido	Blanco	▪ Cocobacilos -
P102 (1)		Puntiforme	Ondulado	Convexa	Rugosa	Mucoid e	Brillante	Blanco	▪ Bacilos + ▪ Cocobacilos -
P103 (2)		Puntiforme	Ondulado	Convexa	Rugosa	Blando	Translucido	Amarillo	▪ Cocobacilos + -



Las muestras analizadas revelaron una amplia variedad de características macroscópicas, incluyendo diferencias en forma, borde, elevación, superficie, consistencia, aspecto y pigmentación. Predominaron formas irregulares, filamentosas y circulares, con bordes ondulados o continuos. Las superficies observadas variaron entre rugosas, lisas y mate. En algunos casos, la rugosidad y dureza de las colonias podrían estar relacionadas con la producción de estructuras protectoras, como cápsulas o esporas (Bakker *et al.*, 2004).

En cuanto a la pigmentación, los tonos amarillos y blancos, junto con variantes translúcidas, sugieren características metabólicas específicas, como la producción de carotenoides o flavoproteínas (Srilekha *et al.*, 2017; Patel *et al.*, 2020). Las diferencias en consistencia, que abarcan texturas blandas, mucoides y duras, podrían estar asociadas con la producción de exopolisacáridos o variaciones en las estructuras celulares (Nwodo *et al.*, 2012; Nanjani, 2012).

La diversidad microbiana es evidente, incluso entre aislamientos provenientes de un mismo punto de muestreo, como P11(1) y P11(2), lo que sugiere una comunidad microbiana compleja en el entorno original. Predominan las bacterias Gram negativas, principalmente bacilos y coco-bacilos, aunque también se identificaron bacterias Gram positivas, como estrepto-bacilos y cocos.

Cabe destacar que varias muestras presentaron resultados mixtos (+/-) en la tinción de Gram, lo cual podría indicar la coexistencia de diferentes tipos de bacterias dentro de un mismo aislamiento o poblaciones heterogéneas.

Este análisis morfológico y de tinción de Gram exhibe la significativa diversidad de microorganismos presentes en las muestras, sin embargo, para lograr una identificación definitiva, será indispensable realizar estudios complementarios, como análisis bioquímicos, moleculares y filogenéticos, que permitan determinar con precisión el género y la especie de los microorganismos aislados.

4.2.2 Actividad amilolítica

Mosto

Para la identificación de las cepas con actividad amilolítica se resembró en agar nutritivo adicionado con almidón soluble las siete cepas obtenidas de mosto de bagazo de agave,

de las cuales se obtuvo crecimiento en todas ellas, después de la prueba con yodo Gram se clasificó cada resultado observable como positivo (+++), parcial (++) y negativo (-) con base a la observación del halo de clarificación alrededor de las cepas (Tabla 7).

Tabla 7. Resultados de la prueba de yodo Gram para evaluar la actividad amilolítica de las cepas obtenidas de mosto de bagazo de agave nutritivo (✓ cumple con el criterio).

Muestra	Positivo +++	Parcial ++	Negativo -
J1 am	✓		
J1 gr	✓		
J1 bi	✓		
J1 bv	✓		
J3 be	✓		
J3 bl			✓
J3 am	✓		

Las siete cepas resembradas en el medio enriquecido con almidón mostraron crecimiento microbiano, no obstante, durante la prueba de yodo Gram, la cepa J3 bl no presentó el halo de clarificación característico de un resultado positivo, sin embargo, su crecimiento sugiere una posible capacidad para utilizar almidón como fuente de carbono (Barua *et al.*, 2021).

Bagazo

Para la identificación de las cepas con actividad amilolítica se resembró en agar nutritivo adicionado con almidón soluble las tres cepas aisladas de las muestras de bagazo de agave, de las cuales se obtuvo crecimiento en todas ellas, pero después de la prueba con yodo Gram se clasificó cada resultado observable en base a la presencia del halo de clarificación alrededor de las cepas (Tabla 8).

Tabla 8. Resultados de la prueba de yodo Gram para evaluar la actividad amilolítica de las cepas obtenidas de bagazo de agave nutritivo (✓ cumple con el criterio).

Muestra	Positivo +++	Parcial ++	Negativo -
B1	✓		
B2	✓		
B3	✓		

Las tres cepas obtenidas de bagazo de agave mostraron resultados positivos en la prueba, lo que podría atribuirse a la capacidad de los microorganismos presentes para producir enzimas destinadas a la degradación de compuestos como lignina, celulosa o almidón



(Morales *et al.*, 2014). Esto es consistente con el hecho de que al ser un material procesado para la obtención de mezcal (calor, fermentación) proporciona un ambiente favorable para microorganismos con estas capacidades degradativas (Gutiérrez-Sarmiento *et al.*, 2022).

Penca

Las 10 cepas aisladas de penca de agave fueron resembradas en agar nutritivo suplementado con almidón soluble. Todas mostraron crecimiento en el medio, pero tras realizar la prueba con yodo Gram, se clasificaron según la presencia o ausencia de halos de clarificación alrededor de las colonias (Tabla 9).

Tabla 9. Resultados de la prueba de yodo Gram para evaluar la actividad amilolítica de las cepas obtenidas de penca de agave nutritivo (✓ cumple con el criterio).

Muestra	Positivo +++	Parcial ++	Negativo -
M1	✓		
M2			✓
M3			✓
M4	✓		
M5	✓		
M6			✓
M7	✓		
M8			✓
M9			✓
M10			✓

Después de la prueba con yodo Gram sólo se observó un halo de clarificación en las placas M1, M4 (Figura 6), M5 y M7.



Figura 6. Determinación de actividad amilolítica. La actividad fue revelada mediante la inundación de las placas con yodo Gram. Las placas con crecimiento microbiano obtenido de penca de agave nombradas como M1 y M4 presentan un halo de clarificación alrededor del crecimiento microbiano.

Los 6 aislados restantes no dieron un resultado concluyente en la prueba cualitativa de degradación de almidón, pero fueron capaces de crecer en la placa de Petri, indicando que podrían tener la capacidad de utilizar almidón como nutriente (Barua *et al.*, 2021).

El *Agave durangensis*, una planta adaptada a climas áridos, podría albergar una microbiota adaptada a entornos hostiles. Las bacterias que presentan actividad amilolítica pueden estar adaptadas para aprovechar los recursos limitados del entorno, como el almidón. Las bacterias que degradan el almidón podrían contribuir a la disponibilidad de nutrientes tanto para ellas mismas como para el agave, en un posible ejemplo de simbiosis mutualista (Martínez-Rodríguez *et al.*, 2014).

Penca endodermis

Las 34 cepas obtenidas de la endodermis de la penca de agave, fueron resembradas en agar nutritivo suplementado con almidón soluble, donde todas mostraron crecimiento. Posteriormente, se realizó la prueba con yodo Gram y se clasificaron los resultados según la presencia o ausencia de halos de clarificación alrededor de las colonias, indicativos de actividad amilolítica (Tabla 10).

Tabla 10. Resultados de la prueba de yodo Gram para evaluar la actividad amilolítica de las cepas obtenidas de endodermis de penca de agave nutritivo (✓ cumple con el criterio).

Muestra	Positivo +++	Parcial ++	Negativo -
P11(1)	✓		
P11(2)	✓		
P13(1)			✓
P13(2)			✓
P22(1)		✓	
P22(2)	✓		
P23(1)	(contaminación +)		✓
P23(2)	✓		
P32(1)	✓		
P33(2)	✓		
P41(1)		✓	
P42(1)	✓		
P51(1)	✓		
P51(2)		✓	
P53(1)			✓
P53(2)		✓	
P61(2)			✓
P63(1)	✓		
P71(1)	✓		
P72(1)	✓		
P72(2)			✓
P73(1)			✓
P81(1)	✓		
P81(2)			✓
P82(1)	✓		
P83(1)	✓		
P91(1)	✓		
P92(1)	✓		
P92(2)			✓
P93(2)	✓		
P101(1)	✓		
P101(2)	✓		
P102(1)			✓
P103(2)	(contaminación +)		✓



Tras realizar la prueba con yodo Gram, se obtuvieron 19 placas con resultados positivos, 4 con resultados parciales, y 11 negativas. Los resultados parciales se determinaron con base en el tiempo de reacción y el tamaño reducido de los halos de clarificación formados.

Se detectó contaminación en las placas P23(1) y P103(2). Aunque las cepas sembradas mostraron resultados negativos, las contaminaciones presentes en estas placas generaron halos transparentes característicos de actividad amilolítica. No se ha confirmado si la contaminación proviene de otras cepas aisladas en este estudio o de fuentes externas, pero su análisis es relevante debido al comportamiento observado.

4.3 Carbón activado

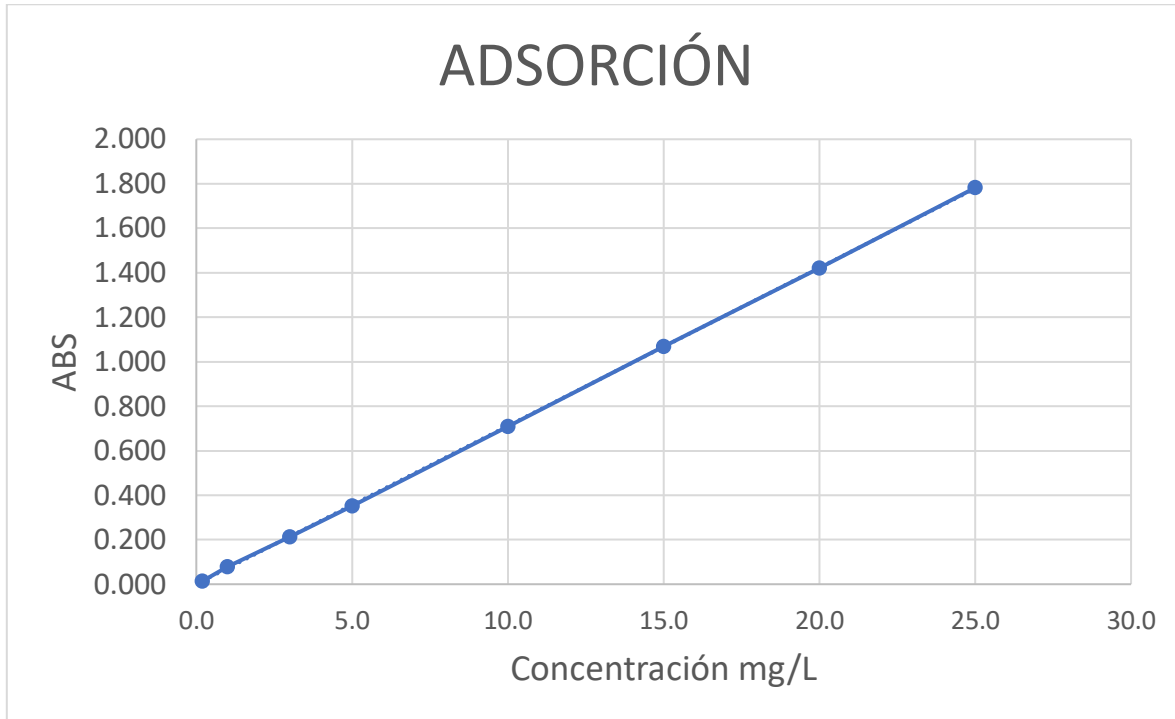
Para evaluar el rendimiento de la carbonización del bagazo de agave, se calculó dividiendo la cantidad de carbón vegetal obtenido entre la cantidad de material inicial (bagazo de agave), ambos expresados en términos de peso seco y multiplicando el resultado por 100. Este análisis arrojó que el carbón vegetal producido en una mufla eléctrica a 350 °C durante una hora alcanzó un rendimiento de carbonización del 33.71%.

Cabe destacar que, según El Bassam y Maegaard (2004), los rendimientos en hornos donde los gases generados durante la carbonización no son recuperados, como fue el caso del presente estudio, suelen oscilar entre el 15% y el 35% en base anhidra. Esto indica que el rendimiento obtenido está en el rango superior del espectro esperado.

Este dato permite profundizar en la evaluación de la eficiencia del proceso y su viabilidad económica (Sanabria *et al.*, 2007).

Pruebas de adsorción

Para evaluar el desempeño del carbón activado (CA) obtenido a partir de bagazo de agave, se utilizaron dos parámetros fundamentales: la capacidad adsorbente (q) y el porcentaje de remoción del colorante naranja de metilo (%R). Ambos valores se determinaron a partir de la concentración inicial y final del colorante, las cuales fueron calculadas con base en la absorbancia registrada por espectrofotometría y una curva de calibración previamente establecida (Grafica 1).



Gráfica 1. Curva de calibración. Soluciones estándar de naranja de metilo, relación entre la concentración del colorante y su absorbancia.

Con base en estos datos, se obtuvo la ecuación de la recta:

$$y = 0.0711x + 0.0007$$

Donde:

y representa la absorbancia y x la concentración en mg/L. Esta ecuación permitió calcular la concentración final del colorante tras el tratamiento con cada muestra de carbón activado, a partir de las absorbancias registradas en el espectrofotómetro.

Una vez determinadas las concentraciones finales (C_f), se calcularon dos parámetros clave para evaluar el desempeño adsorbente:

Capacidad adsorbente (q)

Eq. 10

$$q = \frac{(C_i - C_f) \cdot V}{m}$$



Donde:

q = capacidad adsorbente (mg de adsorbato por g de adsorbente)

C_i = concentración inicial del colorante (mg/L)

C_f = concentración final (mg/L)

V = volumen de la solución (L)

m = masa del adsorbente (g)

Esta fórmula ha sido ampliamente utilizada en estudios de adsorción por lotes (batch) para evaluar el desempeño de materiales adsorbentes (Foo & Hameed, 2010; Mohan & Pittman, 2006).

El porcentaje de remoción (%R) se calculó con la siguiente expresión (Eq. 11):

Eq. 11

$$\%R = \left(\frac{C_i - C_f}{C_i} \right) \cdot 100$$

Este parámetro permite evaluar la eficiencia del adsorbente en la eliminación del contaminante presente en la solución (Crini, 2006; Alzaydien, 2009).

Con base en estas fórmulas, se obtuvieron los valores de capacidad adsorbente y remoción para el CA elaborado a partir de bagazo de agave y se compararon con los obtenidos por dos carbones activados comerciales (CAP y CAC).

Tabla 11. Resultados de la capacidad adsorbente y porcentaje de remoción del naranja de metilo para el CA experimental y dos carbones comerciales.

Tipo de carbón	Absorbancia final	C_f (mg/L)	q (mg/g)	Remoción (%)
Experimental (CA)	-0.00133	-0.0286	1.2514	100.11%
Comercial CAP	0.00366	0.0416	1.2479	99.83%
Comercial CAC	0.001	0.00422	1.2498	99.98%



Los resultados obtenidos indican que los tres materiales evaluados, el carbón activado experimental (CA) y los dos carbones comerciales (CAP y CAC), presentan altas eficiencias de adsorción del colorante sintético naranja de metilo, con porcentajes de remoción superiores al 99.8 %. Notablemente, el carbón activado elaborado a partir de bagazo de agave alcanzó un valor ligeramente superior al 100 %, lo cual, desde un punto de vista físico-químico, no es posible. Este comportamiento anómalo se relaciona con la absorbancia negativa registrada por el espectrofotómetro durante el análisis.

La presencia de valores negativos en absorbancia ha sido discutida previamente por diversos autores. Crini (2006) advierte que, cuando las soluciones son extremadamente diluidas o cuando el adsorbente presenta una alta eficiencia, la concentración residual del colorante puede ubicarse por debajo del límite de detección del equipo, lo que puede derivar en mediciones erróneas o incluso en absorbancias negativas, especialmente si existe una sobrecorrección del blanco o una mala calibración del instrumento.

De forma complementaria, Zhou et al. (2014) sostienen que los materiales adsorbentes de alta eficiencia pueden remover tal cantidad de contaminante que la señal espectrofotométrica resultante es casi imperceptible, y subrayan la importancia de considerar tanto el límite de cuantificación (LOQ) como el límite de detección (LOD) al interpretar resultados cercanos a cero.

Por su parte, Foo y Hameed (2010) enfatizan que, al alcanzar remociones muy elevadas, es esencial corroborar la exactitud de los valores medidos por el equipo analítico, pues un porcentaje de remoción superior al 100 % puede ser un indicio de artefactos instrumentales o errores sistemáticos.

A pesar de estas desviaciones, los resultados muestran que el carbón activado obtenido experimentalmente es comparable en eficiencia a los productos comerciales, lo que respalda su potencial como alternativa viable.

Morfología por microscopio confocal de fluorescencia por barrido laser (CLSM)

Para analizar la morfología superficial del carbón activado CA obtenido, las muestras se examinaron mediante microscopía confocal. Aunque se utilizó un objetivo de 100x, las imágenes no ofrecían una ampliación lo suficientemente cercana, no obstante, se procedió

a la visualización con el apoyo del láser contenido en el equipo, con el objetivo de excitar el azul de metileno adherido al CA durante el proceso de teñido y provocar su fluorescencia, permitiendo así observar su estructura.

Durante este procedimiento, resultó complicado localizar los fragmentos de CA, ya que este material no fluórese de forma natural, sin embargo, se lograron identificar algunos campos donde se apreciaron fragmentos del material (Figura 7). Aunque fue posible observar ciertos relieves, las imágenes obtenidas no ofrecieron suficiente claridad para realizar conclusiones definitivas sobre la morfología superficial del CA.

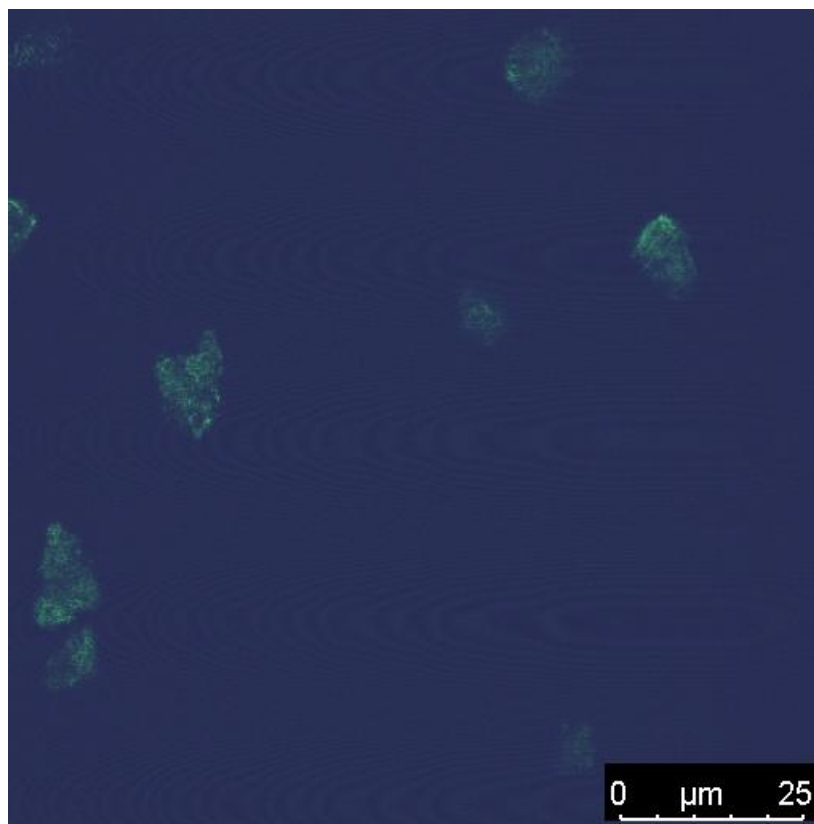


Figura 7. Micrografía CLSM de CA preparado a partir de bagazo de agave y teñido con azul de metileno, visto a 100x y excitado con láser a una longitud de onda de entre 600 y 700 nm.

La microscopía confocal de fluorescencia por barrido láser se utiliza comúnmente para obtener imágenes detalladas de materiales, superficies y especialmente, de muestras biológicas, aprovechando su capacidad para inducir fluorescencia en estas. Sin embargo,



dado que el carbón activado (CA) no es un material fluorescente, su observación suele realizarse mediante Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Aunque existen antecedentes del uso de microscopía confocal en estudios relacionados con el CA, su enfoque principal no es la visualización directa del material, sino de muestras biológicas o compuestos adheridos a su superficie (Gibert *et al.*, 2013; Romanos *et al.*, 2013).

Esto subraya la importancia de considerar las capacidades y limitaciones de cada equipo en función de la naturaleza de las muestras. En este caso, aunque la microscopía confocal no sea el método ideal para estudiar el CA, se utilizó porque era el equipo disponible para realizar las pruebas.

Capítulo 5

Conclusiones y recomendaciones

5.1 Características químicas

La variabilidad en las propiedades químicas de la penca y el bagazo de *Agave durangensis*, en comparación con los valores reportados por otros autores, puede atribuirse a factores como la especie, la edad de la planta, las prácticas de manejo y las condiciones ambientales.

El análisis de sus características químicas y estructurales resalta el potencial del agave para múltiples aplicaciones industriales y agrícolas. Por lo que se recomienda continuar investigando para optimizar el aprovechamiento integral de estos subproductos y desarrollar estrategias que permitan ajustar su composición en función de los objetivos específicos de uso.

5.2 Características biológicas

Se logró caracterizar, tanto macroscópica como microscópicamente, cepas bacterianas presentes en la penca, el bagazo y el mosto de agave mezcalero. Cabe destacar que el número de cepas analizadas en este estudio representa únicamente una fracción de la diversidad bacteriana que habita en estos materiales.



Es fundamental continuar con técnicas de aislamiento microbiano para garantizar la obtención de cepas puras. Además, se recomienda realizar estudios adicionales, como pruebas bioquímicas y análisis genéticos, que permitan confirmar las capacidades metabólicas específicas de los aislados y evaluar su potencial para aplicaciones biotecnológicas o ecológicas.

Respecto a las cepas que demostraron actividad amilolítica, se sugiere realizar siembras por punción para obtener datos más precisos sobre su selección. Asimismo, es necesario implementar pruebas cuantitativas para medir la actividad enzimática, así como ensayos que evalúen su termorresistencia, capacidades de antagonismo y su identificación taxonómica detallada.

5.3 Carbón activado

La metodología empleada para la elaboración de carbón activado (CA) fue exitosa, logrando un material cuyas capacidades adsorbentes, según las pruebas realizadas, son comparables a las de los CA comerciales. Sin embargo, se recomienda estandarizar el proceso de producción para garantizar la reproducibilidad de los resultados y realizar una caracterización proximal detallada del CA obtenido. Asimismo, es importante repetir los análisis de morfología superficial utilizando microscopía electrónica de barrido (MEB) para corroborar y profundizar en la evaluación de sus propiedades estructurales.



Referencias

Abdullah, M. O., Tan, I. A. W. y Lim, L. S. (2011). Automobile adsorption air- conditioning system using oil palm biomass-based activated carbon: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(4): 2061-2072.

Abril, A., & Navarro, E. A. (2012). Etanol a partir de biomasa lignocelulósica (pp. 46-47). Valencia, España: Aleta.

Afra, S., Makhdoumi, A., Matin, M., & Feizy, J. (2017). A novel red pigment from marine *Arthrobacter* sp. g20 with specific anticancer activity. *Journal of Applied Microbiology*, 123(5), 1228-1236. <https://doi.org/10.1111/jam.13576>

Agu, O., Tabil, L., Meda, V., Dumonceaux, T., & Mupondwav, E. (2019). Pretreatment of crop residues by application of microwave heating and alkaline solution for biofuel processing: a review. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79103>

Aguado-Santacruz, G. A., Aguado-Rodríguez, D. L., Moreno-Gómez, B., Arroyo-González, D., Centeno-Jamaica, D., Aguirre-Mancilla, C., & García-Moya, E. (2022). Endomicrobiota bacteriana de agave pulquero (*Agave salmiana*). I. Aislamiento, frecuencia e identificación molecular. *Revista fitotecnica mexicana*, 45(2), 243-250.

Alonso, M. S., & Rigal, L. (1997). Caracterización y valorización del bagazo de *Agave tequilana* Weber de la industria del tequila. *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 3(2), 31-39.

ALzaydien, A. S. (2009). Adsorption of methylene blue from aqueous solution onto a low-cost natural Jordanian Tripoli. *American Journal of Applied Sciences*, 6(6), 1047.

Ankom Technology. (2006). Neutral detergent fiber in feeds filter bag technique.

AOAC International. (2023). AOAC Official Method 2001.11: Protein (crude) in animal feed, forage (plant tissue), grain, and oilseeds: Block digestion method using copper catalyst and steam distillation into boric acid. In *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/9780197610145.003.1403>



AOAC International. (2023). AOAC Official Method 920.39 Fat (Crude) or Ether Extract in Animal Feed. In Official Methods of Analysis of AOAC International. Oxford University Press.

<https://doi.org/10.1093/9780197610145.003.1410>

AOAC International. (2023). AOAC Official Method 934.01: Loss on drying (moisture) at 95–100°C for feeds dry matter on oven drying at 95°–100°C for feeds. In Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL (Oxford University Press).

<https://doi.org/10.1093/9780197610145.003.1381>

AOAC International. (2023). AOAC Official Method 978.10 Fiber (Crude) in Animal Feed and Pet Food: Fritted Glass Crucible Method. In Official Methods of Analysis of AOAC International. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/9780197610145.003.1417>

Arreola Tostado, J. M., Montoya Jasso, V. M., Arreola Nava, J. M., Castillo Valdez, X., Olivares Arreola, E. A., & Báez Pérez, A. (2020). Efecto de la aplicación de levasa (mosto de caña de azúcar) en la producción y calidad de *Agave tequilana* Weber. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(6), 1311-1324.

Arundina, R., Permana, I., Togatorop, E., Ismadi, I., Kusumah, S., Budiman, I., ... & Marlina, R. (2021). Synthesis and characterization of activated carbon from lignocellulosic biomass: oil palm empty fruit bunches and mahogany sawdust. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 10(2), 81-88. <https://doi.org/10.15294/jbat.v10i2.33488>

Azman, A., Mawang, C., & AbuBakar, S. (2018). Bacterial pigments: the bioactivities and as an alternative for therapeutic applications. *Natural Product Communications*, 13(12). <https://doi.org/10.1177/1934578x1801301240>

Bakker, D. P., Postmus, B. R., Busscher, H. J., & Van Der Mei, H. C. (2004). Bacterial strains isolated from different niches can exhibit different patterns of adhesion to substrata. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(6), 3758-3760.

Bansal, R. C., & Goyal, M. (2005). Activated carbon adsorption. CRC press.

Barraza-Soto, S., Domínguez-Calleros, P. A., Montiel-Antuna, E., Návar-Chaidez, J. J., & Díaz-Vásquez, M. A. (2014). La producción de mezcal en el municipio de Durango, México.



Ra Ximhai, Vol. 10 (Número 6 Edición Especial).
<https://www.redalyc.org/pdf/461/46132135006.pdf>

Barraza-Soto, S., Domínguez-Calleros, P. A., Montiel-Antuna, E., Návar-Chaidez, J. J., & Díaz-Vásquez, M. A. (2014). La producción de mezcal en el municipio de Durango, México. *Ra Ximhai*, 10(6), Edición Especial, 65-74. Universidad Autónoma Indígena de México

Barua, R. C., Kolman, M. A., Aguila, M. S., Zapata, P. D., & Alvarenga, A. E. (2021). Aislamiento e identificación de microorganismos amilolíticos y tolerantes a cianuro de efluentes de la industria almidonera. *Revista de Ciencia y Tecnología*, (35), 1-10.

Bautista-Cruz, A., Antonio-Revuelta, B., Gallegos, V., & Báez-Pérez, A. (2019). Phosphate-solubilizing bacteria improve *Agave angustifolia* haw. growth under field conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(14), 6601-6607. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9946>

Bhagia, S., Li, H., Gao, X., Kumar, R., & Wyman, C. (2016). Flowthrough pretreatment with very dilute acid provides insights into high lignin contribution to biomass recalcitrance. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0660-5>

Cai, C., Zhang, T., Kumar, R., & Wyman, C. (2013). Integrated furfural production as a renewable fuel and chemical platform from lignocellulosic biomass. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 89(1), 2-10. <https://doi.org/10.1002/jctb.4168>

Cai, J., Di, X., Dong, Z., Yu, X., Yang, Y., Banks, S., ... & Bridgwater, A. (2018). Processing thermogravimetric analysis data for isoconversional kinetic analysis of lignocellulosic biomass pyrolysis: case study of corn stalk. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 82, 2705-2715. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.09.113>

Cedeño, C. M. 1995. Tequila production. *Critical Reviews in Biotechnology*. 15(1):1-11.

Cervantes Tenorio De Reyna, R. M., & Reyna Pizán, T. N. (2019). Identificación fitoquímica y aislamiento de microorganismos endófitos de *Agave americana*.

CETESB (2006) Vinhaça: critérios e procedimentos para aplicação no solo agrícola. Norma Técnica P4.231. São Paulo.



Chaabouni, Y., Dréan, J., Msahli, S., & Sakli, F. (2006). Morphological characterization of individual fiber of *Agave americana* L. Textile Research Journal, 76(5), 367-374. <https://doi.org/10.1177/0040517506061965>

Chávez-Guerrero, L., Flores, J. & Kharissov, B. (2010). Recycling of ash from mezcal industry: A renewable source of lime. Chemosphere 81, 633–638.

COMERCAM. Informe Estadístico (2025). Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal, A. C.: Oaxaca, México, 2025; Available online:

https://comercam-dom.org.mx/wp-content/uploads/2025/06/INFORME_PUBLICO2025.pdf

Contescu, C., Adhikari, S., Gallego, N., Evans, N., & Biss, B. (2018). Activated carbons derived from high-temperature pyrolysis of lignocellulosic biomass. C – Journal of Carbon Research, 4(3), 51. <https://doi.org/10.3390/c4030051>

Contreras-Hernández, M., Aréchiga-Carvajal, E., Moreno-Jiménez, M., González-Herrera, S., López-Miranda, J., Prado-Barragán, L., ... & Rutiaga-Quiñones, O. (2017). Enzymatic potential of native fungal strains of agave residues. Bioresources, 13(1). <https://doi.org/10.15376/biores.13.1.569-585>

Cortés-Martínez, C.I. & García-Méndez, R.F. (2016). Morphology of the Bagasse Fibers Obtained from the Elaboration Process of Mezcal and Effects on Their Tensile Properties, Journal of Natural Fibers.

Crini, G. (2006). Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: a review. Bioresource technology, 97(9), 1061-1085.

Delfín-Ruíz, M. E., Calderón-Santoyo, M., Ragazzo-Sánchez, J. A., Gómez-Rodríguez, J., & Aguilar-Uscanga, M. G. (2020). Ethanol Production from Enzymatic Hydrolysates Optimized of *Agave tequilana* Weber var. *azul* and *Agave karwinskii* bagasses. BioEnergy Research. <https://doi.org/10.1007/s12155-020-10196-7>

Delgadillo Ruíz, L., Bañuelos Valenzuela, R., Esparza Ibarra, E. L., Gutiérrez Bañuelos, H., Cabral Arellano, F. J., & Muro Reyes, A. (2015). Evaluación del perfil de nutrientes de bagazo de agave como alternativa de alimento para rumiantes. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 6(SPE11), 2099-2103.



Dias, J. M., Alvim, M. C., Almeida, M. F., Rivera, J. y Sánchez, M. (2007). Waste materials for activated carbon preparation and its use in aqueous-phase treatment: A review. *Journal of Environmental Management*, 85 833-846.

Díaz- de la Rosa, J. D., Hernández- Chavarria, J., Murillo, A. E., & Lechuga- Nevárez, M. del R. (2023). Análisis de la economía circular en el proceso de elaboración del mezcal en el municipio de Nombre de Dios, Durango. *Boletín Científico INVESTIGIUM De La Escuela Superior De Tizayuca*, 9(Especial), 36-49. <https://doi.org/10.29057/est.v9iEspecial.11481>

Diaz, S. P. (2022). Residuos de agave en el proceso de producción de mezcal artesanal en el valle de Tehuacán-Cuicatlán.

Díaz-Barajas, S. (2024). Biohydrogen, volatile fatty acids, and biomethane from mezcal vinasses—a dark fermentation process evaluation. *Fermentation*, 10(4), 217. <https://doi.org/10.3390/fermentation10040217>

Díaz-Vázquez, D., Carrillo-Nieves, D., Orozco-Nunnelly, D., Senés-Guerrero, C., & Gradilla-Hernández, M. (2021). An integrated approach for the assessment of environmental sustainability in agro-industrial waste management practices: the case of the tequila industry. *Frontiers in Environmental Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2021.682093>

El-Zawawy, W., Ibrahim, M., Abdel-Fattah, Y., Soliman, N., & Mahmoud, M. (2011). Acid and enzyme hydrolysis to convert pretreated lignocellulosic materials into glucose for ethanol production. *Carbohydrate Polymers*, 84(3), 865-871. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.022>

El Bassam, N., & Maegaard, P. (2004). *Integrated renewable energy for rural communities: Planning guidelines, technologies and applications*. Elsevier.

Fernández Macedo, A. M. (2022). Adsorción de complejos aniónicos Au (CN) 2-en carbón activado generado a partir de biomasa bagazo de agave. *Universidad Michoacana de san Nicolás de Hidalgo*.

Flores, R. P. A.; Robles, P. C. y Hernández, A. 2013. Prospección de la producción de residuos en la agroindustria mezcalera de Santiago Matatlán, Oaxaca. In: *Novenas*



Jornadas Politécnicas de Investigación en Ciencias y Tecnología. CIIDIR-IPN-Oax. CD Rom. 85 p.

Flores-Gómez, C. A., Escamilla Silva, E. M., Zhong, C., Dale, B. E., da Costa Sousa, L., & Balan, V. (2018). Conversion of lignocellulosic agave residues into liquid biofuels using an AFEX™-based biorefinery. *Biotechnology for biofuels*, 11, 7. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0995-6>

Flores-Ríos, P. A., Celerino, R., & Castañeda-Hidalgo, E. (2020). Generación y caracterización básica de bagazos de la agroindustria del mezcal en Oaxaca. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(6), 1437-1445.

Flores-Trujillo, A.K.I., Mussali-Galante, P., de Hoces, M. C., Blázquez-García, G., Saldarriaga-Noreña, H.A., Rodríguez-Solís, A., Tovar-Sánchez, E., Sánchez-Salinas, E. & Ortiz-Hernández, L. (2020). Biosorption of heavy metals on *Opuntia fuliginosa* and *Agave angustifolia* fibers for their elimination from water. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 18, 441–454.

Foo, K. Y., & Hameed, B. H. (2010). Insights into the modeling of adsorption isotherm systems. *Chemical engineering journal*, 156(1), 2-10.

François, J., Alkim, C., & Morin, N. (2020). Engineering microbial pathways for production of bio-based chemicals from lignocellulosic sugars: current status and perspectives. *Biotechnology for Biofuels*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-020-01744-6>

Gallardo-Martínez, D., Viniegra-González, G., Figueroa-Martínez, F., Rocha, J., & Cruz-Guerrero, A. (2024). Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas epífitas, fructanolíticas y homofermentativas de *Agave salmiana*.

García, A. J., Cházaro, M. J., Nieto, J., Sánchez, L. F., Tapia, E., Gómez, J. F., ... & Calderón, M. A. Gutiérrez. (2017). Panorama del aprovechamiento de los agaves en México. Capítulo 1. Agave. Agared. México.

García-Herrera, E.J., Méndez-Gallegos, S.J. & Talavera-Magaña, D. (2010). El género *Agave* spp en México: principales usos de importancia socioeconómica y agroecológica. *Revista Salud Pública y Nutrición, Edición Especial* 5, 109-129.



García-Mendoza, A. J. (2007). Los agaves de México. *Ciencias*, 87, 14-23.

Gebretsadik, T. T., Tesfay, A. H., Gebru, A. G., Assayehegn, E., Desta, Y. H., Gebremedhin, K. H., ... & Teklemmedhin, T. B. (2023). Characterization and Comparative Insights on *Agave americana* and *Agave sisalana* Leaf Fibers for High-Performance Applications. *Journal of Natural Fibers*, 20(2), 2246648.

Gibert, O., Lefèvre, B., Fernández, M., Bernat, X., Paraira, M., Calderer, M., & Martínez-Lladó, X. (2013). Characterizing biofilm development on granular activated carbon used for drinking water production. *Water Research*, 47(3), 1101-1110.

Gómez, A. (2014). Producción de biogás a partir de bagazo y vinaza del *Agave Angustifolia* Haw generada como residuo en la elaboración de mezcal (Doctoral disertación, Tesis de Maestría). Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional unidad Oaxaca.

Gómez, A., Valdez-Vázquez, I., Caballero-Caballero, M., Chiñas-Castillo, F., Alavéz-Ramírez, R., & Montes-Bernabé, J. (2018). Co-digestion of *Agave angustifolia* haw bagasse and vinasses for biogas production from mezcal industry. *Revista Mexicana De Ingeniería Química*, 18(3), 1073-1083.
<https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbi/revmexingquim/2019v18n3/gomez>

González Díaz, A. (2015). Aislamiento e identificación de hongos endófitos de la especie *Piper aduncum* (piperaceae) y su actividad bactericida antagónica frente a distintas cepas microbianas.

González, M., Eguiarte, D., Macías, R., Salcido, L., Laborde, J., & Morán, J. (2018). Evaluación de la composta de bagazo de agave como componente de sustratos para producir plántulas de agave azul tequilero. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 4(8), 1161-1173. <https://doi.org/10.29312/remexca.v4i8.1130>

Gschaedler, A. C., Mora, A. G., Ramos, S. M. C., Vázquez, G. D., & Valdez, J. G. (2017). Panorama del aprovechamiento de los Agaves en México. *Red Temática Mexicana Aprovechamiento Integral Sustentable y Biotecnología de los Agaves*. México.



Gutiérrez-Sarmiento, W., Peña-Ocaña, B. A., Lam-Gutiérrez, A., Guzmán-Albores, J. M., Jasso-Chávez, R., & Ruíz-Valdiviezo, V. M. (2022). Microbial community structure, physicochemical characteristics and predictive functionalities of the Mexican tepache fermented beverage. *Microbiological Research*, 260, 127045.

Haq, I., Qaisar, K., Nawaz, A., Akram, F., Mukhtar, H., Zohu, X., ... & Choong, T. (2021). Advances in valorization of lignocellulosic biomass towards energy generation. *Catalysts*, 11(3), 309. <https://doi.org/10.3390/catal11030309>

Hernández, J. & Hernández, E. (2012). La vida social del agave tequilero. *Carta Económica Regional*, 23/24, (108/110), 13-36.

Hidalgo-Reyes, M., M. Caballero-Caballero, L. H. Hernández-Gómez, and G. Urriolagoitia-Calderón. (2015). Chemical and morphological characterization of *Agave angustifolia* bagasse fibers. *Botanical Science* 93 (4): 807–817.

Hu, J., Arantes, V., & Saddler, J. (2011). The enhancement of enzymatic hydrolysis of lignocellulosic substrates by the addition of accessory enzymes such as xylanase: is it an additive or synergistic effect?. *Biotechnology for Biofuels*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/1754-6834-4-36>

Hulle, A., Kadole, P., & Katkar, P. (2015). *Agave americana* leaf fibers. *Fibers*, 3(1), 64-75. <https://doi.org/10.3390/fib3010064>

Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (2018). Conoce las modificaciones a la Declaración General de Protección a la Denominación de Origen “Mezcal”. Available online: <https://www.gob.mx/impi/es/articulos/conoce-lasmodificaciones-a-la-declaracion-general-de-proteccion-a-ladenominacion-de-origen-mezcal?idiom=es>

Kucharska, K., Rybarczyk, P., Hołowacz, I., Łukajtis, R., Glinka, M., & Kamiński, M. (2018). Pretreatment of lignocellulosic materials as substrates for fermentation processes. *Molecules*, 23(11), 2937. <https://doi.org/10.3390/molecules23112937>

Latsague M.; Sáez, P. y Mora, M. (2014). Efecto de la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio, sobre el contenido foliar de carbohidratos, proteínas y pigmentos fotosintéticos en plantas de *Berberidopsis corallina* Hook. f. *Gayana Bot.* 71(1):37-42.



Li, M., Ma, S., & Zhu, X. (2016). Preparation of activated carbon from pyrolyzed rice husk by leaching out ash content after co₂ activation. *Bioresources*, 11(2). <https://doi.org/10.15376/biores.11.2.3384-3396>

Linerio, J. E. (2002). Selección y evaluación de un sistema de tratamiento terciario para la depuración de vinazas tequileras. Informe técnico. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco/Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología Sistema de Investigación Regional José María Morelos.

López, C. F. L. (2022). Los destilados de agave en México. *Revibec: Revista iberoamericana de economía ecológica*, 35(3), 21-38.

Macías, R. R., González, E. G. A., Covarrubias, G. I., Natera, F. Z., López, P. M. G., López, M. A. R., & Pérez, E. S. (2010). Caracterización física y química de sustratos agrícolas a partir de bagazo de agave tequilero. *Interciencia*, 35(7), 515-520.

Mæhre, H. K., Dalheim, L., Edvinsen, G. K., Elvevoll, E. O., & Jensen, I. J. (2018). Protein Determination-Method Matters. *Foods* (Basel, Switzerland), 7(1), 5. <https://doi.org/10.3390/foods7010005>

Martínez, J., Baltierra-Trejo, E., Taboada-González, P., Aguilar-Virgen, Q., & Márquez-Benavides, L. (2020). Life cycle environmental impacts and energy demand of craft mezcal in México. *Sustainability*, 12(19), 8242. <https://doi.org/10.3390/su12198242>

Mateos Moreno Isabel (2006). Aprovechamiento De Residuos Agrarios <http://www.eeci.net.biobase> - <http://www.ciemat.es/eng/proyectos/pderbiocombus>

Meza, L. (2018). Biorrefinería del bagazo de *Agave tequilana*: extracción de lignina por diferentes pretratamientos y producción de metano. Tesis de maestría. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C.

Mielenz, J., Rodríguez, M., Thompson, O., Yang, X., & Yin, H. (2015). Development of agave as a dedicated biomass source: production of biofuels from whole plants. *Biotechnology for Biofuels*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-015-0261-8>



Mohan, D., & Pittman Jr, C. U. (2006). Activated carbons and low cost adsorbents for remediation of tri-and hexavalent chromium from water. *Journal of hazardous materials*, 137(2), 762-811.

Montella, S., Ventorino, V., Lombard, V., Henrissat, B., Pepe, O., & Faraco, V. (2017). Discovery of genes coding for carbohydrate-active enzyme by metagenomic analysis of lignocellulosic biomasses. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/srep42623>

Morales, S. M. B., Castelblanco, E. M. S., & Suárez, H. J. G. (2014). Aislamiento de microorganismos amilolíticos, celulolíticos y lignolíticos a partir del suelo de humedales de Bogotá. *Revista Sennova: Revista del Sistema de Ciencia, Tecnología e Innovación*, 1(1), 148-155.

Morán-Salazar, R. G., Marino-Marmolejo, E. N., Rodríguez-Campos, J., Dávila-Vázquez, G., & Contreras-Ramos, S. M. (2016). Use of agave bagasse for production of an organic fertilizer by pretreatment with *Bjerkandera adusta* and vermicomposting with *Eisenia fetida*. *Environmental technology*, 37(10), 1220-1231.

Morán-Salazar, R., Sánchez-Lizárraga, A., Rodríguez-Campos, J., Dávila-Vázquez, G., Marino-Marmolejo, E., Dendooven, L., ... & Contreras-Ramos, S. (2016). Utilization of vinasses as soil amendment: consequences and perspectives. *Springerplus*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2410-3>

Mustafa, A., Rashid, S., Rahim, M., Roslan, R., Musa, W., Sikder, B., ... & Sasi, A. (2022). Enzymatic pretreatment of lignocellulosic biomass: an overview. *Journal of Chemical Engineering and Industrial Biotechnology*, 8(1), 1-7. <https://doi.org/10.15282/jceib.v8i1.7030>

Nanjani, S. (2012). Diversity and eps production potential of halotolerant bacteria from veraval and dwarka. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 2(2), 20-25. <https://doi.org/10.9790/3008-0222025>

Nieto-Delgado, C., Terrones, M., & Rangel-Méndez, J. R. (2011). Development of highly microporous activated carbon from the alcoholic beverage industry organic by-products. *Biomass and bioenergy*, 35(1), 103-112.



Nor, N., Lau, L., & Lee, K. (2013). Synthesis of activated carbon from lignocellulosic biomass and its applications in air pollution control—a review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 1(4), 658-666. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2013.09.017>

Nwodo, U., Green, E., & Okoh, A. (2012). Bacterial exopolysaccharides: functionality and prospects. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(11), 14002-14015. <https://doi.org/10.3390/ijms131114002>

Ortiz-Méndez, O. H., Morales-Martínez, T. K., Ríos-González, L. J., Rodríguez-de la Garza, J. A., Quintero, J., & Aroca, G. (2017). Producción de bioetanol a partir de biomasa de *Agave lechuguilla* pretratada por autohidrólisis. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(2), 467-476.

Patel, N., Dwivedi, M., Jadeja, S., & Begum, R. (2020). Antibacterial activity of marine bacterial pigments obtained from arabian sea water samples. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14(1), 517-526. <https://doi.org/10.22207/jpam.14.1.54>

Payno, M. (1864). Memoria sobre el maguey mexicano y sus diversos productos. Imprenta de A. Boix, a cargo de Miguel Zornoza, México.

Pérez, A., Rojas, J., & HELSON VALE, M. (2009). Biología y perspectiva de microorganismos endófitos asociados a plantas. *Revista Colombiana de Ciencia Animal-RECIA*, 1(2), 286-301.

Pérez, S. D. (2021). Residuos de agave en el proceso de producción de mezcal artesanal en el valle de Tehuacán-Cuicatlán. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Pérez-Macedo, P. M., Hernández-Arrazola, S. E., Aquino-González, L. V., Cano-Barrita, P. F. D. J., & Rojas-Olivos, A. (2017). Propiedades adsorptivas del carbón activado obtenido a partir de bagazo de agave y cascarón de huevo.

Puligundla, P., Oh, S., & Mok, C. (2016). Microwave-assisted pretreatment technologies for the conversion of lignocellulosic biomass to sugars and ethanol: a review. *Carbon Letters*, 17(1), 1-10. <https://doi.org/10.5714/cl.2016.17.1.001>

Ramírez-Cortina, C., Alonso-Gutiérrez, M., & Rigal, L. (2012). Valorización de residuos agroindustriales del tequila para alimentación de rumiantes. *Revista Chapingo Serie*



Ciencias Forestales Y Del Ambiente, 18(3), 449-457.
<https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2011.08.059>

Rangel-Heredia, K. I., Leticia, Garza-Tovar, L., Maximiano, Sánchez-Cervantes, E. M., & Carlos, Torres-González, L. C. (2021). Activated carbon from agave wastes (*Agave tequilana*) for supercapacitors via potentiostatic floating test. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 32, 21432-21440.

Rivera, J., M. Sanchez, M., Gomez, V., Alvarez, P. M., Alvim, M. C., Dias, J. M. (2011). Activated carbon modifications to enhance its water treatment applications. An overview. *Journal of Hazardous Materials*, 187 1-23.

Robles-González, V., Estrada-Vázquez, C., Dendooven, L., & Rinderknecht-Seijas, N. (2019). Valorization of *Agave tequilana* bagasse by solid-state fermentation for cellulase and hemicellulase production. *Waste and Biomass Valorization*, 10(9), 2597-2606.

Robles-González, V., Galíndez-Mayer, J., Rinderknecht-Seijas, N., & Poggi-Varaldo, H. (2012). Treatment of mezcal vinasses: a review. *Journal of Biotechnology*, 157(4), 524-546.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.09.006>

Rojas-Triviño, A. (2011). *Conceptos y práctica de Microbiología general*. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira.

Romanos, J., Beckner, M., Stalla, D., Tekeei, A., Suppes, G., Jalisatgi, S., ... & Pfeifer, P. (2013). Infrared study of boron-carbon chemical bonds in boron-doped activated carbon. *Carbón*, 54, 208-214.

Rosete, B. (2009). Propuesta de un sistema de desmedulado para la obtención de fibra de bagazo de agave tomado de los desechos de las fábricas tequileras de Arandas Jalisco. Tesis de licenciatura para obtener el título de ingeniero mecánico. Escuela Superior de Ingeniería M.

Ruíz, L., Valenzuela, R., Ibarra, E., Bañuelos, H., Arellano, F., & Reyes, A. (2018). Evaluación del perfil de nutrientes de bagazo de agave como alternativa de alimento para rumiantes. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, (11), 2099-2103.
<https://doi.org/10.29312/remexca.v0i11.778>



Sagrero, K. (2023). Improvement in methane concentration in the biogas produced through the co-digestion of waste from the seafood restaurant industry and mezcal vinasses.

<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3318122/v1>

Sanabria, E. O., Cayré, M. E., & Frank, W. A. (2007). Optimización de producción de carbón con *Aspidosperma quebracho* blanco en la provincia del Chaco, Argentina. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 13(1), 23-27.

Sánchez-Carmona, A., Magaña, G., Amaya-Delgado, L., & Arreola-Vargas, J. (2017). Aprovechamiento Sustentable de Residuos y Subproductos. *Panorama del Aprovechamiento de los Agaves en México*. AGARED, 221.

Sánchez-Silva, J. M., González-Estrada, R. R., Blancas-Benítez, F. J., & Fonseca-Cantabrana, Á. (2020). Utilización de subproductos agroindustriales para la bioadsorción de metales pesados. *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 23(), 1-18. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.261>

Santiago-Mateo, P., Velázquez-Sánchez, R. M., Gómez-Velázquez, J., & Ramos-Flores, A. (2021). Adobes Sustentables a Partir De Los Desechos De La Producción De Mezcal (Financial Viability of Sustainable Adobes from Waste within the Mezcal Industry. The Case of “El Rey De Matatlán” in Oaxaca, México). *Revista Global de Negocios*, 9, 45-59.

Santos, M., Ramos, E., Morales, J., & Hensel, O. (2019). Inoculum adaptation for the anaerobic digestion of mezcal vinasses. *Revista Internacional De Contaminación Ambiental*, 35(2), 447-458. <https://doi.org/10.20937/rica.2019.35.02.15>

Santos, M., Valadez, F., Solís, V., González-Nava, C., Martell, A., & Hensel, O. (2017). Performance of a microbial fuel cell operated with vinasses using different cod concentrations. *Revista Internacional De Contaminación Ambiental*, 33(3), 521-528. <https://doi.org/10.20937/rica.2017.33.03.14>

Secretaría de Economía. (2016). NOM-070-SCFI-2016: Bebidas alcohólicas-Mezcal-Especificaciones. Diario Oficial de la Federación. https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/6437/seeco11_C/seeco11_C.html.



Secretaría de Salud. (2009). Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. *Diario Oficial de la Federación*. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5098505&fecha=01/03/2010.

SEMARNAT. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2018). Anuario Estadístico de la producción Forestal. México, D.F.

Senthamaraikannan, P., Sanjay, M., Jawaid, M., Siengchin, S., Khan, A., & Pruncu, C. (2020). A new study on effect of various chemical treatments on *Agave americana* fiber for composite reinforcement: physico-chemical, thermal, mechanical and morphological properties. *Polymer Testing*, 85, 106437. <https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2020.106437>

Serrano, M. (2024). Del agave a la arquitectura en tierra. aprovechamiento de fibras naturales de los desechos de la agroindustria en la fabricación del adobe biocompósito. *Ge-Conservacion*, 25(1), 44-52. <https://doi.org/10.37558/gec.v25i1.1257>

Shafeeyan, M. S., Daud, W. M. A. W., Houshmand, A. y Shamiri, A. (2010). A review on surface modification of activated carbon for carbon dioxide adsorption. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 89: 143-151.

Sierra, P. (2005). El maguey, el pulque y sus deidades. Universidad Nacional Autónoma de México, México. http://ru.atheneadigital.filos.unam.mx/jspui/handle/FFYL_UNAM/1284

Singh, A., Sevda, S., Reesh, I., Vanbroekhoven, K., Rathore, D., & Pant, D. (2015). Biohydrogen production from lignocellulosic biomass: technology and sustainability. *Energies*, 8(11), 13062-13080. <https://doi.org/10.3390/en81112357>

Soest, P. V. (1990). Use of detergents in the analysis of fibrous feeds. II. A rapid method for the determination of fiber and lignin. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*, 73(4), 491-497.

Soto B, M. C., Vázquez de Aldana, B. R., & Zabalgogazcoa, I. (2014). Diversidad taxonómica de hongos endófitos *Epichloë/Neotyphodium* en *Lolium perenne* de distintos hábitats.



Speltini, A., Sturini, M., Dondi, D., Annovazzi, E., Maraschi, F., Caratto, V., ... & Buttafava, A. (2014). Sunlight-promoted photocatalytic hydrogen gas evolution from water-suspended cellulose: a systematic study. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 13(10), 1410-1419. <https://doi.org/10.1039/c4pp00128a>

Srilekha, V., Gudikandula, K., Seshasrinivas, V., & Charya, M. (2017). Antibacterial and anti-inflammatory activities of marine *Brevibacterium sp.* *Research in Pharmaceutical Sciences*, 12(4), 283. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.212045>

Sun, Z., Bottari, G., Afanasenko, A., Stuart, M., Deuss, P., Fridrich, B., ... & Barta, K. (2018). Complete lignocellulose conversion with integrated catalyst recycling yielding valuable aromatics and fuels. *Nature Catalysis*, 1(1), 82-92. <https://doi.org/10.1038/s41929-017-0007-z>

Syaifudin, A. and Sutrisno, S. (2022). Antibacterial activity and potential of natural textile dyes from sea water bacteria. *Al-Hayat Journal of Biology and Applied Biology*, 5(1), 33-46. <https://doi.org/10.21580/ah.v5i1.13446>

Tejada M, García-Martínez AM, Parrado J (2009) Effects of a vermicompost composted with beet vinasse on soil properties, soil losses and soil restoration. *Catena* 77:238–247

Tetreault, D., McCulligh, C., & Lucio, C. (2021). Distilling agro-extractivism: agave and tequila production in México. *Journal of Agrarian Change*, 21(2), 219-241. <https://doi.org/10.1111/joac.12402>

Thiex, N., Novotny, L., & Crawford, A. (2019). Determination of ash in animal feed: AOAC Official Method 942.05 revisited. *Journal of AOAC International*, 95(5), 1392–1397. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.12-129>

Tovar-Corona, A., Vázquez-Cuchillo, O., Moreno-Luna, F., & Hernández-Tosca, D. (2016). Sistema biotecnológico para reducción de cromo (vi) en aguas residuales. *Tópicos De Investigación en Ciencias De La Tierra Y Materiales*, 3, 163-174. <https://doi.org/10.29057/aactm.v3i3.9627>

USEPA (2004) Guidelines for Water Reuse. EPA/625/R-04/108 Washington, DC



Usman, H., Abdulkadir, N., Gani, M., & Maiturare, H. (2017). Bacterial pigments and its significance. *Moj Bioequivalence & Bioavailability*, 4(3).
<https://doi.org/10.15406/mojbb.2017.04.00073>

Velarde, V., Diaz-Vidal, T., Cisneros-López, E., Robledo-Ortiz, J., López-Naranjo, E., Ortega-Gudiño, P., ... & Navarro-Partida, J. (2021). Mechanical and physicochemical properties of 3d-printed agave fibers/poly(lactic) acid biocomposites. *Materials*, 14(11), 3111. <https://doi.org/10.3390/ma14113111>

Velázquez, A. (2019). Producción de hojas de papel a partir de la pulpa de bagazo de agave espadín (*Angustifolia* Haw). Tesis de Ingeniería. Facultad de estudio superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.

Wakerley, D., Kuehnel, M., Orchard, K., Ly, K., Rosser, T., & Reisner, E. (2017). Solar-driven reforming of lignocellulose to h₂ with a cds/cdox photocatalyst. *Nature Energy*, 2(4).
<https://doi.org/10.1038/nenergy.2017.21>

Wang, C., Dong, D., Wang, H., Müller, K., Qin, Y., Wang, H., ... & Wu, W. (2016). Metagenomic analysis of microbial consortia enriched from compost: new insights into the role of actinobacteria in lignocellulose decomposition. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1).
<https://doi.org/10.1186/s13068-016-0440-2>

Weiss, N., Börjesson, J., Pedersen, L., & Meyer, A. (2013). Enzymatic lignocellulose hydrolysis: improved cellulase productivity by insoluble solids recycling. *Biotechnology for Biofuels*, 6(1). <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-5>

Wu, W., Mei, Y., Zhang, L., & Cai, J. (2014). Effective activation energies of lignocellulosic biomass pyrolysis. *Energy & Fuels*, 28(6), 3916-3923. <https://doi.org/10.1021/ef5005896>

Yan, X., Tan, D., Inderwildi, O., Smith, J., & King, D. (2011). Life cycle energy and greenhouse gas analysis for agave-derived bioethanol. *Energy & Environmental Science*, 4(9), 3110. <https://doi.org/10.1039/c1ee01107c>

Yavuz Y (2007) EC and EF processes for the treatment of alcohol distillery wastewater. *Sep Purif Technol* 53:135–140



Zhou, Y., Lu, J., Zhou, Y., & Liu, Y. (2019). Recent advances for dyes removal using novel adsorbents: a review. *Environmental pollution*, 252, 352-365.

Zúñiga-Estrada, L. (2013). Nutrición de *Agave tequilana* y manejo de los fertilizantes en un sistema de producción intensiva (riego por goteo). MX-0-310391-33-03-14-09-32. SAGARPA. INIFAP-Campo Experimental Las Huastecas. Villa Cuauhtémoc, Tamaulipas. Folleto técnico. 20 p.