



Revista Internacional de Investigación e Innovación Tecnológica

Página principal: www.riit.com.mx

Funcionalización por impregnación de fibras de bagazo de *Agave angustifolia* Haw con ácidos clorogénicos del café verde

Functionalization by impregnation of *Agave angustifolia* Haw bagasse fibers with green coffee chlorogenic acids

Roldán-Herrera, D.C.^a, Camacho-Díaz, B.H.^a, Buitrago-Arias, C.^a, Campos-Mendiola, R.^a, Alamilla-Beltrán, L.^b Arenas-Ocampo, M.L.^{a*}

^a Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional, carretera Yautepec-Jojutla, Km. 6, Calle CEPROBI No. 8, Colonia San Isidro, Yautepec C.P. 62731, México.

^b Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Av. Luis Enrique Erro S/N, Unidad Profesional Adolfo López Mateos, Zacatenco, Alcaldía Gustavo A. Madero, C.P. 07738, Ciudad de México.
droidanh2100@alumno.ipn.mx; bcamacho@ipn.mx; cbuitragoa1500@alumno.ipn.mx; rcmediola@ipn.mx;
lalamilla@ipn.mx; mlarenas@ipn.mx*

Innovación tecnológica: En los últimos años la combinación de materiales lignocelulósicos con compuestos antioxidantes ha ido incrementando en la industria alimentaria y farmacéutica, esta combinación tiene como fin ayudar con problemas de salud y nutrición.

Área de aplicación industrial: Agroindustria, nutraceutico, antioxidante.

Recibido: 13 julio 2023

Aceptado: 20 noviembre 2023

Abstract

The pollution caused by the excess of agro-industrial waste is a global issue. This is the case in the agave processing industry, which generates around 40% of waste in the form of bagasse, which is used for various purposes. In recent years, the combination of lignocellulosic materials with antioxidant compounds has been increasing in the food and pharmaceutical industry. Green coffee is an important source of antioxidant and anti-inflammatory compounds such as chlorogenic acid. Therefore, the objective of this work was to functionalize *Agave angustifolia* Haw bagasse fibers with a green coffee extract rich in chlorogenic acids through an impregnation process. For this purpose, two types of agave bagasse from fructan production (FBAF) and mezcal production (FBAM) were characterized. Impregnation functionalization of FBAF and FBAM with the green coffee extract (ECV) was standardized by setting the temperature, contact time, solvent, and

chlorogenic acid concentration in the extract. The main results showed that the impregnated bagasse fibers (FBAFI and FBAMI), despite containing residual phenols, were functionalized with ECV since they significantly increased their antioxidant activity, evaluated both by DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) and ABTS (2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid); regarding the impregnation process, was optimized at 60 °C, for 6 h, 5 mg of chlorogenic acid using a hydroalcoholic solution in a proportion of 70% water and 30% ethanol; the final content of chlorogenic acids under optimal impregnation conditions was 650.6 µg/g and 425.8 µg/g for FBAFI and FBAMI, respectively. In conclusion, the functionalization of agave bagasse fibers with this hydroalcoholic extract of green coffee significantly increased the antioxidant activity of the fibers, due to the formation of irreversible bonds between chlorogenic acid and bagasse cellulose. Thus, favoring the conservation of the antioxidant in gastrointestinal conditions and therefore its use as functional dietary fiber.

Keywords: agro-industrial waste, antioxidants, phenols, plant fibers, bioaccessible.

Resumen

La contaminación generada por el exceso de residuos agroindustriales es una problemática mundial. Tal es el caso de la industria de transformación del agave que genera alrededor del 40% de residuos en forma de bagazo, aprovechado para diversos usos. En los últimos años la combinación de materiales lignocelulósicos con compuestos antioxidantes ha incrementado en la industria alimentaria y farmacéutica. El café verde es fuente importante de compuestos antioxidantes y antiinflamatorios como el ácido clorogénico. Por lo que el objetivo de este trabajo fue funcionalizar fibras de bagazo de *Agave angustifolia* Haw con extracto de café verde rico en ácidos clorogénicos por un proceso de impregnación. Para ello, se caracterizaron dos tipos de bagazo de agave provenientes de la obtención de fructanos (FBAF) y de la producción de mezcal (FBAM). La funcionalización por impregnación de FBAF y FBAM con el extracto de café verde (ECV) se estandarizó ajustando temperatura, tiempo de contacto, disolvente y concentración de ácido clorogénico en el extracto. Los principales resultados mostraron que las fibras de bagazo impregnadas (FBAFI y FBAMI) a pesar de contener fenoles residuales, fueron funcionalizadas con el ECV ya que incrementaron significativamente ($p \leq 0.05$) su actividad antioxidante, evaluada tanto por DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo) como por ABTS (ácido 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico); en cuanto al proceso de impregnación fue optimizado a 60 °C, durante 6 h, 5 mg de ácido clorogénico utilizando una solución hidroalcohólica en una proporción de 70% agua y 30% etanol; el contenido final de ácidos clorogénicos en condiciones óptimas de impregnación fue de 650.6 µg/g y 425.8 µg/g para FBAFI y FBAMI, respectivamente. En conclusión, la funcionalización de fibras de bagazo de agave con este extracto hidroalcohólico de café verde incrementó significativamente la actividad antioxidante de las fibras, debido a la formación de enlaces irreversibles entre el ácido clorogénico y la celulosa del bagazo. Favoreciendo así la preservación del antioxidante bajo condiciones gastrointestinales y por lo tanto su uso como fibra funcional dietaria.

Palabras clave: residuos agroindustriales, antioxidantes, fenoles, fibras vegetales, bioaccessible.

1. Introducción

En la última década la generación de residuos agroindustriales se ha convertido en una problemática mundial debido a la alta contaminación medioambiental que se genera a causa de algunos procesos industriales [1]. La industria del agave produce una considerable cantidad de residuos en forma de bagazo, que se estima en aproximadamente 360,000 toneladas al año en peso seco [2, 3]. Las características del bagazo residual puede variar según el proceso de elaboración, pudiendo obtenerse en estado crudo o cocido [4]. La composición principal del bagazo incluye celulosa, lignina y hemicelulosa [5, 6]. El bagazo es el componente estructural del tallo del agave y está considerando dentro de las fibras vegetales. La fibra de bagazo de agave se caracteriza por su excelente calidad, destacándose por su resistencia y durabilidad excepcional [7].

En los últimos años, la combinación de materiales lignocelulósicos como las fibras vegetales con compuestos antioxidantes ha incrementado en la industria alimentaria y farmacéutica [8], los compuestos con actividad antioxidante desempeñan una función crucial en el cuerpo al protegerlo contra el daño oxidativo causado por las especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) [9], sin embargo, la efectividad de los antioxidantes en la prevención de enfermedades depende de preservar su biodisponibilidad. Esto representa un desafío, ya que después de ser ingeridos por vía oral, solo pequeñas proporciones de estas sustancias permanecen disponibles. Esto se debe a factores como el tiempo que pasan en el estómago, su habilidad para ser absorbidos en el intestino, su solubilidad y su reacción a las condiciones de pH, así como la presencia de enzimas y otros nutrientes [10]. Una fuente importante de antioxidantes es el café verde (granos sin

tostar). El café verde es rico en compuestos que exhiben actividad antioxidante como los ácidos clorogénicos [11].

El estudio de la estabilidad de compuestos bioactivos desde la dieta hasta la digestión gastrointestinal es un punto clave para evaluar sus efectos potenciales sobre la salud humana ya que la digestión gastrointestinal podría modificar la estructura química de compuestos bioactivos que afectan sus posibles efectos benéficos [12]. Es por esto que se busca la combinación de materiales lignocelulósicos con compuestos antioxidantes, ya que, las fibras de bagazo actúan como un medio físico que ayuda a transportar el ácido clorogénico a través del tracto gastrointestinal. La fibra de bagazo al ser insoluble no es digerida por el cuerpo humano, por lo que protege a los ácidos clorogénicos del café verde de la degradación enzimática en el estómago y el intestino delgado, permitiendo así mayor estabilidad, disponibilidad y liberación controlada manteniendo sus propiedades funcionales durante el proceso digestivo[12].

Para lograr la incorporación de compuestos antioxidantes en fibras vegetales existen técnicas como la funcionalización, proceso en el cual se modifican las propiedades de las fibras para mejorar su funcionalidad o adaptarlas a aplicaciones específicas; esto se logra mediante la introducción de nuevos grupos químicos, enlaces covalentes, o la adsorción de moléculas bioactivas en la superficie de las fibras. La funcionalización de fibras puede tener varios objetivos, como mejorar la resistencia, la hidrofobicidad o hidrofiliidad, la capacidad de adsorción, la actividad antimicrobiana, o la capacidad de liberación controlada de sustancias bioactivas. La funcionalización de fibras es un área de investigación activa en la ciencia de materiales y tiene aplicaciones en campos como la industria textil, medicina, biotecnología e ingeniería de tejidos [13].

Existen diversas técnicas utilizadas para funcionalizar fibras vegetales (Tabla 1), una de las más comunes es la impregnación, esta técnica implica la saturación de las fibras con soluciones químicas que contienen

compuestos funcionales permitiendo que se impregnen en la matriz de la fibra, lo que resulta en la modificación de sus propiedades [14].

Tabla 1. Funcionalización de fibras vegetales con antioxidantes

Autor(es)	Técnica de funcionalización	Soporte	Antioxidante	Resultados relevantes	Uso de la fibra funcionalizada
[15]	Modificación química e impregnación por inmersión	fibra de algodón	Ácido gálico y polilisina	La fibra de algodón posterior a la impregnación presentó propiedades antioxidantes y antibacterianas	Apósito dérmico, textil, farmacológico
[16]	Impregnación con disolventes supercríticos (SSI)	Fibras naturales de yute	Antioxidantes de uva roja	Se impregno el yute con antioxidantes extraídos de la uva roja y las mejores condiciones de impregnación fueron de 50 Mpa y 55 °C	Empaque de alimentos
[17]	Impregnación con disolventes supercríticos (SSI)	Tejido de algodón	Antioxidantes de mango	El tejido de algodón se impregnó con antioxidantes de mango y la mejor condición fue la aplicación de 300 bar y 45 °C	Conservación de alimentos, el cuidado de la piel o la cicatrización de heridas
[18]	Modificación química	Fibras de agave	Grafeno y dióxido de titanio	Mediante SEM se observó que las fibras de agave se funcionalizaron con las microplacas de grafeno y dióxido de titanio lo que le brinda propiedades fotocatalizadoras	Compuesto fotocatalítico
[19]	Modificación química	Fibra dietética de fresa	Antioxidantes de aceitunas	El uso de esta nueva fibra dietética soluble enriquecida con antioxidantes como ingrediente alimenticio funcional podría promover la salud intestinal	Fibra dietaria, alimento funcional

La revalorización de fibras naturales mediante su funcionalización con extractos vegetales (con actividad biológica) ofrece la posibilidad de combinar las propiedades de los fitoextractos (antioxidante, antimicrobianas, antiinflamatoria, entre otras) con las ventajas de las fibras naturales, como material de soporte, estabilizante, refuerzo o protección. Debido a esto, Berni, et al., 2019, mencionan que es necesario generar más estudios de investigación que busquen mejorar o hacer más eficiente y efectiva la funcionalización de fibras naturales para su aplicación en diversas industrias como la

textil, farmacéutica y alimentaria mediante métodos no solo innovadores, sino económicos y sustentables [20].

La fermentación de los compuestos fenólicos en el colon humano desempeña un papel significativo en la salud intestinal. Los polifenoles no son biodisponibles en el intestino delgado humano, lo que significa que no se absorben de manera significativa en esta parte del sistema digestivo y, por lo tanto, no están fácilmente disponibles para ser utilizados en el organismo; en el caso de los ácidos clorogénicos, su estructura química y

las condiciones del intestino delgado dificultan su absorción eficiente [12, 19]. La fibra actúa como una matriz que atrapa y acarrea a los compuestos con actividad antioxidante evitando su liberación a través del tracto intestinal [21, 22]. Dado que estos compuestos insolubles permanecen en el tracto gastrointestinal durante períodos prolongados, teniendo la capacidad de estabilizar los radicales solubles como lo son los producidos por los iones hierro y cobre provenientes de la dieta, que no son capaces de ser absorbidos en el intestino delgado [19, 23]. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue funcionalizar fibras de bagazo de *Agave angustifolia* Haw con un extracto hidroalcohólico de café verde rico en ácidos clorogénicos.

2. Materiales y equipos

Se trabajó con los siguientes materiales vegetales: fibra de bagazo de agave (*Agave angustifolia* Haw) de dos procesos productivos, una parte obtenida del proceso de extracción de fructanos (FBAF) por lixiviación mediante un proceso controlado (patente No. Mx/a/2015/016512) y otra parte se obtuvo en una productora de mezcal (FBAM) ubicado en San José Vista Hermosa en el municipio de Puente de Ixtla, Morelos (México); así como granos de café verde (*Coffea arabica* L.) provenientes de un cultivo ubicado en el estado de Morelos.

3. Métodos Experimentales

3.1. Fibra de bagazo de agave

Los residuos de fibra de bagazo de agave obtenidos de la extracción de fructanos y de la industria mezcalera, se deshidrataron en un secador de bandeja (I06040199274-1-1993, México) a 60 °C hasta llegar a un contenido de humedad del 5%. Se redujo el tamaño de partícula de las fibras de bagazo en un molino de granos (Pulvex, México) y posteriormente se tamizaron en malla no. 30 (80 µm) [24, 25].

3.1.1. Análisis del contenido de lignina y celulosa por tinción diferencial utilizando microscopía confocal de barrido láser

Para la caracterización de la distribución de lignina y celulosa en las fibras, se llevó a cabo un análisis utilizando un microscopio confocal de barrido láser (modelo LSM800, Zeiss, Alemania). Las muestras fueron observadas utilizando objetivos apocromáticos de 20X y 40X, con una apertura numérica de 0.8 y 1.3 respectivamente.

El bagazo fue contrastado con el fluorocromo calcoflúor White con la finalidad de que la celulosa florezca de color azul a un espectro de emisión de 400 nm a 495 nm, la lignina se observó gracias a su autofluorescencia identificable de color verde a una longitud de onda de 495 nm a 700 nm. Finalmente, se llevó a cabo el análisis de imagen empleando el software Image J. En este proceso, se separaron los canales de la imagen RGB en los canales verde y azul y se procedió a la cuantificación del porcentaje de luminosidad de cada uno de ellos utilizando la herramienta medida de color del mismo software [26].

3.1.2. Determinación de celulosa

La cuantificación de celulosa se realizó por el método planteado por Kurschner y Hoffer [25, 27]. En este método, se tomaron 0.5 g de muestra y se les aplicó un tratamiento inicial empleando una solución de etanol y ácido nítrico en una proporción de 4:1. Luego, estas muestras se sometieron a un proceso de reflujo en un sistema de baño maría durante una hora. Transcurrido este tiempo, se añadieron otros 20 mL de la solución de etanol y ácido nítrico, repitiendo el proceso de calentamiento en baño maría con reflujo durante otra hora. Las muestras resultantes fueron lavadas con agua destilada caliente durante una hora, seguidas de un lavado adicional con una solución saturada de acetato de sodio y otro lavado con agua

destilada caliente. Finalmente, el material se secó en una estufa (modelo Imperial V, Lab-line, USA) a 90 °C durante 24 horas antes de proceder a su pesaje [27]. El contenido de celulosa fue calculado con la Ec. (1).

$$\begin{aligned} & \% \text{ Celulosa} \\ & = \frac{\text{Masa final (g)}}{\text{Masa inicial de la muestra seca (g)}} \\ & * 100 \end{aligned} \quad (\text{Ec. 1})$$

3.1.3. Determinación lignina

La cuantificación de lignina se realizó empleando el método planteado por Klason (1922). Para ello, se tomaron 50 mg de muestra y se aplicó un tratamiento inicial, adicionando 5 mL de ácido sulfúrico al 72 % a temperatura ambiente. Luego, la muestra fue calentada a 50 °C con agitación continua durante 2 horas. Después de este paso, se añadieron 85 mL de agua destilada y se sometió la muestra a una hidrólisis completa en una autoclave a 120 °C y 15 psi durante 1 hora. Posteriormente, la muestra fue filtrada y lavada hasta alcanzar un pH neutro. La muestra resultante se secó a 60 °C durante 12 horas en una estufa (modelo Imperial V, Lab-line, USA) y finalmente se procedió a su pesaje [29]. El contenido de lignina fue calculado con la Ec. (2).

$$\begin{aligned} & \% \text{ Lignina} \\ & = \frac{\text{Masa final (g)}}{\text{Masa inicial de la muestra seca (g)}} \\ & * 100 \end{aligned} \quad (\text{Ec. 2})$$

3.1.4. Análisis morfoestructural por microscopia electrónica de barrido ambiental

Se analizó a partir de imágenes obtenidas por medio de un microscopio electrónico de barrido ambiental (Zeiss modelo EVO | LS 10, Alemania). Para evitar que las muestras sufrieran daño por deshidratación en

condiciones de alto vacío se optó por trabajar con una presión variable incluyendo agua desionizada en la atmosfera a una presión de 90 Pa, condiciones de presión variable, un voltaje de aceleración de 20 y 30 kV y mediante el uso de un detector de electrones retrodispersos (BDS). Por último, el análisis de las imágenes se realizó utilizando el software Image J.

3.1.5. Identificación de grupos funcionales de las fibras de bagazo residual FT – IR

La identificación de grupos funcionales de las fibras de bagazo de agave se evaluó por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT - IR). Se utilizó un espectrofotómetro (IRAffinity-1, SHIMADZU, Japón), con cristal de seleniuro de zinc permitiendo el análisis de muestras en el infrarrojo medio (MIR). Para cada espectro se registró una media de 60 escaneos con una resolución de 8 cm⁻¹ en el intervalo de números de onda de 400 - 4000 cm⁻¹. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

3.2. Obtención del extracto de fibra de bagazo de agave

Los biocompuestos presentes en la fibra se extrajeron mediante sonicación, para esto se utilizó la metodología descrita por Ibarra-Cantún et al., [30]. Se preparó una dispersión de fibra de bagazo y agua destilada (5 g/100 mL), la extracción se realizó en un sonicador (Branson CPX – 952 -519 R, Inglaterra) durante 1 h a una temperatura de 40 °C y una potencia de 550W, posteriormente se filtró con papel filtro Whatman no. 2. El extracto acuso se utilizó en las pruebas de evaluación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante.

3.2.1. Evaluación de la compuestos fenólicos y actividad antioxidante de los extractos de fibras de bagazo de agave

a. Cuantificación de fenoles

La cuantificación de fenoles totales se realizó utilizando el método espectrofotométrico de Folin – Ciocalteu. Se preparó una disolución de carbonato de sodio al 20% pesando 5 g de este en un matraz aforado a 25 mL con agua destilada y después se llevó al ultrasonido por 20 min a una frecuencia de 37 KHz y una potencia de 100, con el fin de homogenizar la disolución. Por otra parte, se preparó el reactivo Folin - Ciocalteu, con base a una relación de 1:2 con agua destilada en un frasco ámbar y se llevó a refrigeración para evitar la degradación [31].

b. Evaluación de la actividad antioxidante por ABTS

Se realizó con base en la metodología de Rufino et al., [32] y García-Solís et al., [33]; para esto se tomaron 50 µL del extracto y se mezclaron con 1450 µL de ácido 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS●+), la mezcla se mantuvo en oscuridad para favorecer la reacción, después de 30 min se midió la absorbancia a una longitud de onda de 732 nm en un espectrofotómetro (Genesys, 10UV-VIS Scanning, 335909, Thermospectronic, USA), usando etanol como blanco de referencia. Se calculó el porcentaje de actividad antioxidante con la Ec. (3).

$$\% \text{ Actividad de ABTS} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} * 100\% \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde:

A_{muestra} : Absorbancia de la muestra.

A_{control} : Absorbancia de una mezcla que contiene 50 mL de etanol en lugar de la muestra.

Se generó una curva de calibración utilizando Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico) como estándar, abarcando concentraciones de 0 a 0.5 mg/mL. La relación entre el porcentaje de inhibición y la concentración de Trolox se utilizó para determinar la actividad antioxidante, la cual se expresó en µmol de Trolox por gramo de muestra.

c. Evaluación de la actividad antioxidante por DPPH

Esta técnica se realizó con el método descrito por Mensor et al., [34] y García-Solís et al., [33]. Se tomaron 500 µL del extracto y se adicionaron 2000 µL de DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo), la mezcla se mantuvo en oscuridad para favorecer la reacción, después de 30 min se midió la absorbancia a una longitud de onda de 529 nm en un espectrofotómetro (Genesys, 10UV-VIS Scanning, 335909, Thermospectronic, USA), usando etanol como blanco de referencia. El porcentaje de actividad antioxidante se calculó mediante la Ec. (4).

$$\% \text{ Actividad de DPPH} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} * 100\% \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde:

A_{control} : Absorbancia de una mezcla que contiene 500 mL de etanol en lugar del extracto.

A_{muestra} : Absorbancia del extracto.

Se generó una curva de calibración utilizando Trolox como estándar, abarcando concentraciones de 0 a 0.5 mg/mL. La relación entre el porcentaje de inhibición y la concentración de Trolox se utilizó para determinar la actividad antioxidante, la cual se expresó en µmol de Trolox por gramo de muestra.

3.3. Obtención de la muestra de café verde

Se trituraron los granos de café verde utilizando un molino de cuchillas (IKA, M 20, China) y luego se tamizaron a través de una malla no. 40, que corresponde a una apertura de 425 μm . Se realizó el desengrasado de la muestra utilizando el método Soxhlet. Para ello, las muestras pulverizadas se colocaron en cartuchos de celulosa y se realizaron lavados con hexano durante 7 h, siguiendo el protocolo establecido por AOAC [35].

3.3.1. Extracción de antioxidantes por sonicación

Se llevó a cabo la extracción de los compuestos antioxidantes de los granos molidos y desengrasados utilizando el método de sonicación, siguiendo la metodología descrita por Castro et al., [31]. Se tomó una muestra de 1 g de los granos molidos y desengrasados (utilizando el método Soxhlet; [35]), se agregaron 5 mL de etanol al 70% cada 20 min, hasta alcanzar una relación disolvente/muestra de 15 mL/g. La extracción se realizó en un sonicador (Branson, CPX – 952 - 519 R, Inglaterra) a una temperatura de 40 °C y una potencia de 550W. Una vez obtenido el extracto, se filtró utilizando papel filtro Whatman no. 2. Posteriormente, se eliminó el disolvente utilizando un rotavapor, posteriormente se llevó hasta sequedad para finalmente reconstituir 1mg/mL de extracto (Bioevopeak, REV-2000, China).

3.3.2. Cuantificación de compuestos antioxidantes

a. Cuantificación de ácidos clorogénicos

La cuantificación se llevó a cabo mediante cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC), según las indicaciones descritas

por Crețu et al., [36] y García-Solis et al., [33].

Se preparó la solución madre de los ácidos clorogénicos (Sigma Aldrich®) diluyendo 1 mg en 1 mL de metanol grado HPLC. Las soluciones se rociaron en placas de sílice para HPTLC 60 F254, utilizando un equipo automático de TLC y una jeringa de 25 μL (velocidad de aplicación: 150 nL/s). La fase móvil para la elución del extracto fue una mezcla de acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico y agua (10: 1.1: 1.1, 2.3 v / v). La curva de calibración del estándar se obtuvo con el registro del área de los picos, altura de los picos en UA y los espectros de absorción en $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ de extracto, tomando en cuenta seis puntos en el intervalo de 2-10 $\mu\text{L}/\text{banda}$ ($y=4.895 \times 10^{-9} x + 1.623 \times 10^{-2}$, $R^2 = 0.9901$).

3.4. Funcionalización

3.4.1. Optimización de la Impregnación

Las condiciones de impregnación para los dos tipos de fibra (FBAF y FBAM), se obtuvieron de un diseño Taguchi el cual se realizó empleando el software estadístico Minitab 18, con nueve corridas y tres repeticiones cada una. Las variables analizadas fueron: temperatura de impregnación (25, 40 y 60 °C), tiempo de impregnación (1, 6, y 12 h), combinación de los disolventes (%agua/%etanol= 30/70; 100/0; 50/50) y cantidad de ácidos clorogénicos (0.1, 0.2 y 0.5 mg). El diseño experimental arrojó nueve corridas y como variable de respuesta se tuvo el contenido de ácidos clorogénicos impregnados determinado por HPTLC, por triplicado para cada una de las nueve corridas por cada tipo de fibra.

Las fibras de bagazo (FBAF y FBAM) fueron sometidas a lavados con agua destilada con la finalidad de eliminar los azúcares solubles. Se prepararon soluciones utilizando 5 g de cada tipo de fibra y 100 mL del extracto de café

verde, siguiendo las condiciones del diseño experimental (combinación de disolventes y cantidad de ácidos clorogénicos). Las soluciones fueron agitadas a una temperatura y tiempo específico. Posteriormente, se filtraron las soluciones y se cuantificaron los ácidos clorogénicos en la fracción sólida obtenida mediante HPTLC, según las indicaciones descritas por Crețu et al., [36] y Garcia-Solis et al., [33]. Además, se evaluó la actividad antioxidante por las técnicas de ABTS y se realizó la identificación del contenido de ácidos clorogénicos (observados gracias a su autofluorescencia de color azul) utilizando la microscopia confocal de barrido láser (MCBL) y la identificación de grupos químicos y funcionales por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT - IR).

3.5. Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de una vía, con el software estadístico Minitab 18 (Minitab Inc., State College, PA, USA). Las diferencias significativas entre las medias de cada uno de los tipos de fibras de bagazo (FBAF y FBAM) se compararon

mediante la prueba t-Student con un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$).

4. Discusión de Resultados

4.1. Fibra de bagazo de agave

4.1.1. Análisis del contenido de lignina y celulosa por tinción diferencial

En las micrografías (Figura 1) para ambos bagazos residuales mediante un análisis de imagen se obtuvo el porcentaje correspondiente a la mayor intensidad de color por cada canal y por tipo de fibra, teniendo que el mayor porcentaje de intensidad de luminosidad en ambas fibras se presentó en el canal azul (B) (58.60% para la FBAF y 58.88% para la FBAM) el cual correspondió a la presencia de celulosa contrastada con el fluorocromo (calcofluor). Dichos resultados fueron similares a los obtenidos en trabajos previos, Rosas-Hernández et al., [25] reportaron una mayor intensidad de azul correspondiente a la celulosa que del canal verde correspondiente a la lignina en bagazo de *Agave angustifolia* Haw; esto debido al proceso de deslignificación al que fueron sometidas las fibras con organosolv asistida por microondas.

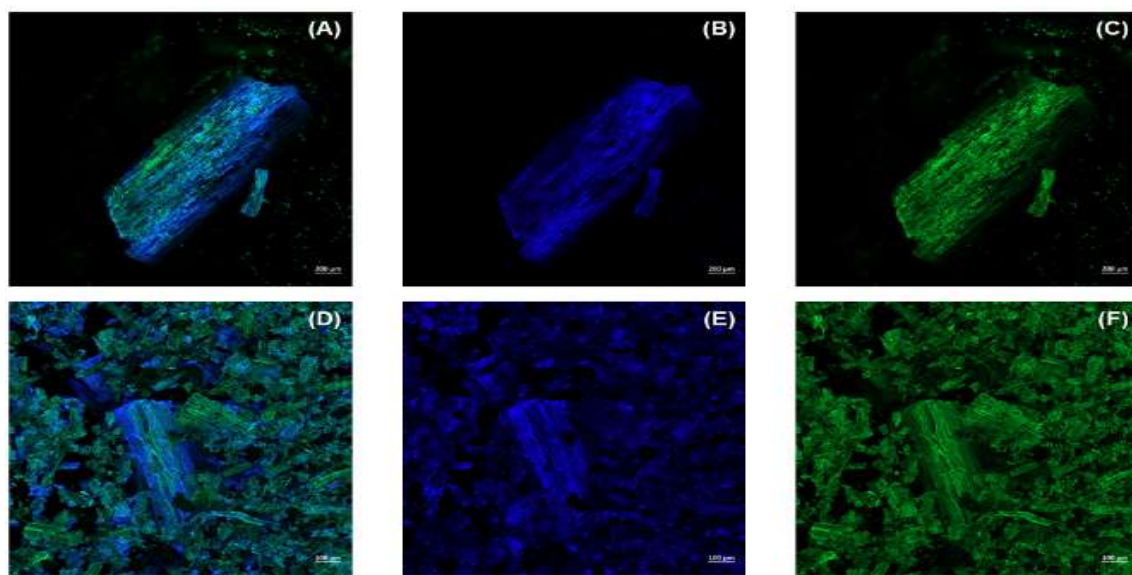


Figura 1. Micrografía confocal de barrido láser de la fibra del proceso de extracción de fructanos (A, B y C) y la fibra del proceso de producción de mezcal (D, E y F).; **A, D)** Ambos canales **B, E)** Canal azul **C, F)** Canal verde.

Mediante la cuantificación del contenido lignocelulósico para la fibra de bagazo de agave del proceso de producción de mezcal con métodos gravimétricos se obtuvieron resultados para celulosa y lignina de $28.35 \pm 0.48\%$ y $15.77 \pm 0.54\%$, respectivamente y para la fibra del proceso de extracción de fructanos se encontraron porcentajes de celulosa y lignina de $26.54 \pm 0.54\%$ y $12.84 \pm 0.29\%$, a diferencia de lo reportado por Ibarra-Cantú et al., 2020 [30] quienes obtuvieron resultados similares pero contenidos más altos de celulosa y lignina en *Agave angustifolia* de 48.04% y 20.69% , respectivamente [37].

El bagazo proveniente de un mismo material cuenta con características y aplicaciones distintas dependiendo del método de transformación del que provenga (cocido, fermentado, deslignificado o simplemente molido) [4]. El método de transformación del que provenga el bagazo será el que defina las características funcionales de ese posible subproducto. Tal es el caso del bagazo residual obtenido de la producción de mezcal el cual es sometido a procesos no controlados como: altas temperaturas, degradación enzimática y tiempos de fermentación prolongados [38].

Gracias a la presencia de compuestos fenólicos provenientes de la degradación de lignina de las fibras de bagazo, este podría exhibir propiedades antioxidantes [39] y un mayor contenido de ligninas representaría una mayor capacidad antioxidante del residuo. Además de que recientemente Bermúdez-Oria et al., 2019 [19] mencionan la importante interacción de los polisacáridos como la celulosa con los polifenoles formando complejos irreversibles entre ellos [26].

4.1.2. Análisis morfoestructural

El análisis de las fibras por microscopía electrónica de barrido ambiental Figura 2, permitió apreciar las micrografías de ambos tipos de fibras, con el fin de identificar las diferencias morfológicas que pudieran existir en los materiales e influyeran en la funcionalización de las mismas para su posterior aplicación.

En la fibra de bagazo obtenido de la extracción de fructanos (Figura 2 D, E y F) se pueden apreciar las fibrillas de celulosa (FC), la visualización de estas fibrillas podría indicar una deslignificación y erosión de hemicelulosa, ya que son los biopolímeros encargados de recubrir y unir la parte celulósica de la fibra. En la fibra derivada del proceso de producción de mezcal (Figura 2 C, D) de igual manera se pueden observar las fibrillas de celulosa, sin embargo, no se encuentran tan expuestas como en el caso anterior.

En la (Figura 2 C y F) se pueden analizar células vegetales del bagazo de agave demostrando que tanto en el bagazo de mezcal (C) como en el bagazo de fructanos (F) se pueden observar células estructuralmente dañadas, presentando roturas en la superficie celular, este daño se debe a la despolimerización del material lignocelulósico ocasionado por las altas temperaturas y la hidrólisis ocasionada en los diferentes procesos de obtención de ambos bagazos.

Las Figuras 2A y D corresponden a fibras de bagazo de agave, desde un punto de vista transversal en las que en ambas micrografías se pueden observar mayormente tejidos vasculares y paquetes celulares que pueden corresponder a tejido de la parénquima, en ambos tipos de extracciones se evidencia pérdida del contenido parenquimatoso debido

a una hidrólisis provocada por las altas temperaturas de los procesos ocasionando que se vean de mejor manera los microtubos que en ambos casos cuentan con una estructura íntegra significando esto que ambos procesos de obtención del bagazo no son muy destructivos con este [25]. La

eliminación del parénquima se debe a que se encuentra conformado por regiones amorfas de polisacáridos termolábiles como hemicelulosas y pectinas y en ambos procesos se somete la piña de agave a altas temperaturas.

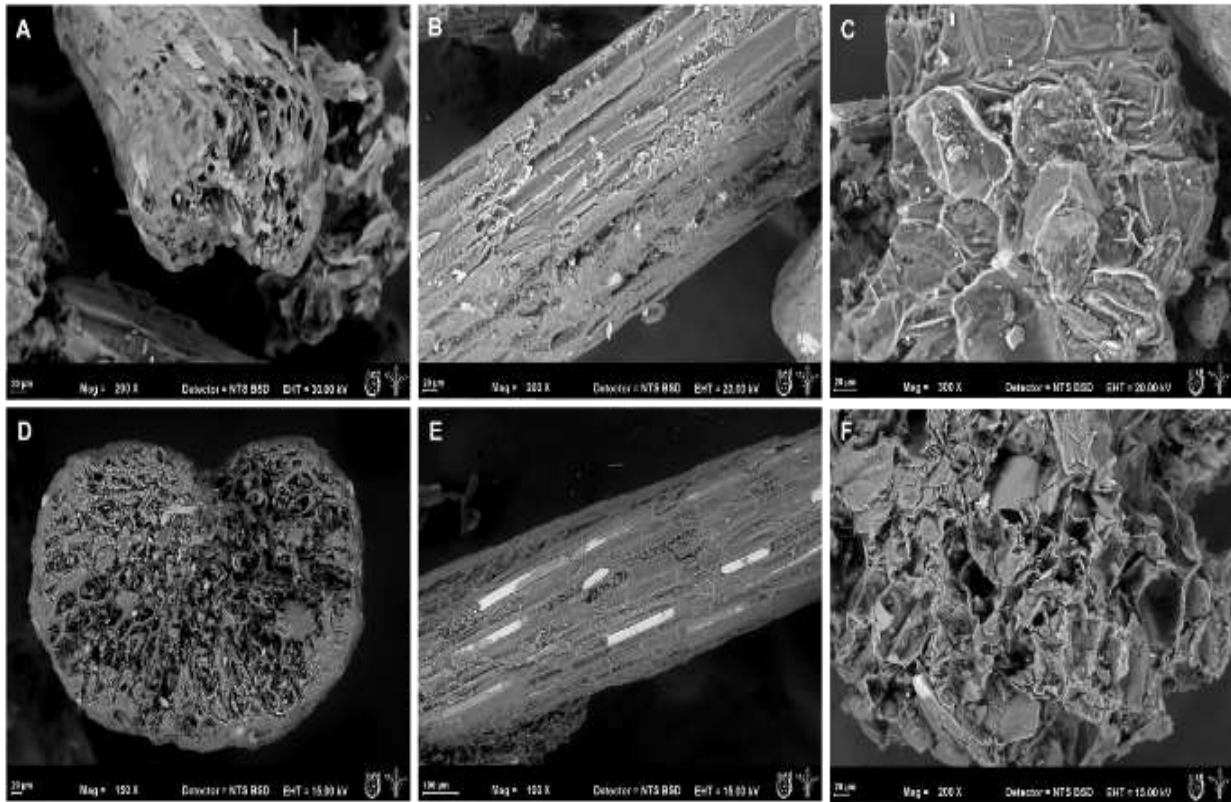


Figura 1. Micrografías de las fibras de bagazo de *Agave angustifolia* Haw del proceso de producción de mezcal (A, B y C) y la fibra del proceso de extracción de fructanos (D, E y F).

4.1.3. Identificación de los grupos funcionales de las fibras de bagazo de agave

En la Figura 2 se muestra el FT - IR de las fibras de bagazo (FBAF y FBAM). Los espectros de FT - IR se llevaron a cabo para caracterizar la estructura química al identificar los grupos funcionales presentes en cada muestra, se presentan espectros con solapamiento de las bandas, encontrando diferencias espectrales entre las dos fibras de

bagazo en la región del $1700 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ correspondiente a la vibración de enlaces $\text{C}=\text{O}$ y $\text{C}=\text{C}$ característicos de los anillos aromáticos presentes en los fenoles, se muestra una señal con mayor intensidad en la fibra del bagazo del proceso de mezcal, esto se debe a, que esta fibra cuenta con un mayor contenido de polifenoles frente a la fibra del proceso de fructanos. En la Tabla 2 se describen las señales reportadas en cada muestra.

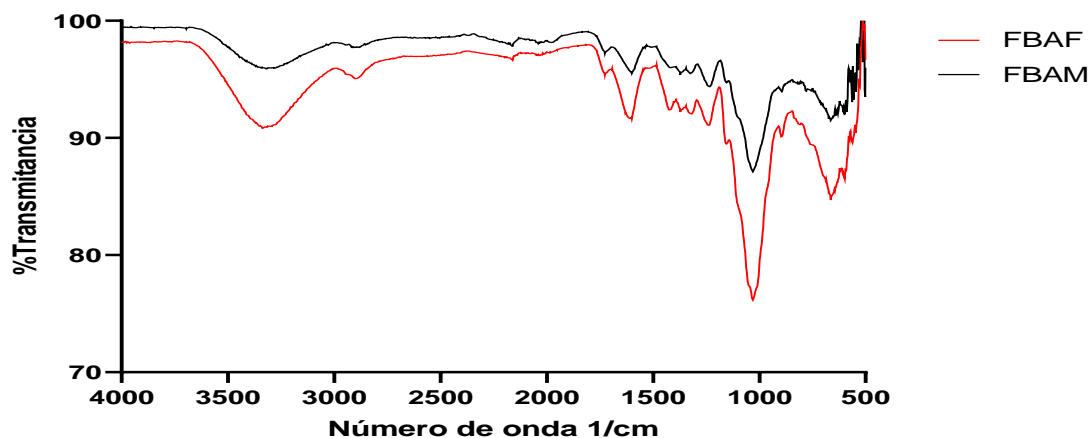


Figura 2. Espectro FT - IR de las fibra bagazo agave (FBAF y FBAM).

Tabla 2. Asignación de bandas vibratorias correspondientes a las muestras de las fibras de bagazo de agave (FBAF y FBAM).

Número de onda (1/cm)	Modo vibracional	Grupo funcional
3700 – 3100	Vibraciones de enlaces de grupos hidroxilo (-OH)	Vibraciones asociadas a la tensión del enlace OH con formación de puentes de hidrógeno; presenta características en los carbohidratos [40]
1700 – 1500	Vibraciones de enlaces C=O y C=C	Característicos de los anillos aromáticos de la lignina [26].
1660 – 1500	Vibraciones de estiramiento de enlaces N-H	Corresponde a aminoácidos presentes en la goma arábiga [40].
1300 – 750	Corresponde a vibraciones de enlaces C-O-C	Características de enlaces glucosídicos presentes en los fructanos [26, 27].
1200 – 900	Corresponde a vibraciones de enlaces C-H y C-O	Característicos de la integridad de los polímeros presentes en la lignina, la hemicelulosa y la celulosa [26].

4.1.4. Contenido de fenoles de bagazo de agave

En el presente trabajo se encontraron contenidos de fenoles de 0.91 mg GAE/g y de 2.65 mg GAE/g para FBAF y FBAM, respectivamente (Tabla 3). El contenido de fenoles de ambos extractos de las fibras residuales se relaciona con la estructura de las muestras, ya que, son materiales lignocelulósicos con contenidos altos de lignina, polímero fenólico compuesto por tres monolignoles principales: alcohol paracumarílico, alcohol sinapílico y alcohol conílico [30]. La diferencia entre las muestras se debe a que como se mencionó anteriormente, el bagazo residual obtenido de la producción de mezcal cuenta con un porcentaje de lignina mayor al presente en la

fibra de bagazo de la extracción de fructanos 15.77% y 12.84%, respectivamente.

4.1.5. Actividad antioxidante bagazo de agave

La determinación de la actividad antioxidante de FBAF y FBAM se realizó con los métodos basados en la capacidad de secuestro de radicales libres (ABTS y DPPH) y se obtuvieron valores de $21.91 \pm 0.73 \mu\text{M}$ Trolox/g con el método ABTS y de $14.42 \pm 0.34 \mu\text{M}$ Trolox/g con el método DPPH para FBAF y para FBAM una actividad antioxidante de $155.15 \pm 0.71 \mu\text{M}$ Trolox/g con el método ABTS y de $164.96 \pm 0.56 \mu\text{M}$ Trolox/g con el método DPPH. Existen diferencias significativas en el contenido de actividad antioxidante de ambas fibras de

bagazo (Tabla 3). Siendo esto relacionado con el mayor contenido de fenoles que están presentes en la fibra obtenida del proceso de producción de mezcal. Los compuestos fenólicos generan actividad antioxidante debido a que su estructura química les permite la donación de electrones o hidrógenos a los radicales libres y otras especies reactivas de oxígeno, neutralizándolos y reduciendo su capacidad de causar daño oxidativo.

Uno de los motivos por lo que la fibra de bagazo de mezcal mostró una capacidad antioxidante mayor y un contenido de fenoles muy por encima de la de fructanos, podría estar asociada con un contenido mayor de lignina y los fenoles residuales que son componentes provenientes de la hidrólisis del

material residual y de otros componentes que además la prueba de Folin puede detectar además de los fenólicos por ser una reacción de óxido-reducción inespecífica. Por otro lado, podría ser que en el caso del bagazo de mezcal donde fue un proceso sometido a condiciones no controladas durante la producción del destilado, existió una mayor interacción con compuestos fenólicos y otros atrapados en la matriz y que estos pudieron solubilizarse en los disolventes de extracción, que tuvo lugar. Tal como Chávez-Sifontes y Dómine, (2013) [38], quienes mencionaron que la hidrólisis ácido térmica de la lignina puede dar lugar a la formación de compuestos fenólicos como la vainillina, cresoles, catecoles y guayacol con capacidad antioxidante.

Tabla 3. Análisis de compuestos antioxidantes de las fibras de bagazo de agave.

Muestra	Fenoles (mgEAG/g)	ABTS ($\mu\text{M Trolox/g}$)	DPPH ($\mu\text{M Trolox/g}$)
FBAF	0.91 ± 0.38^a	21.91 ± 0.73^a	14.42 ± 0.34^a
FBAM	2.65 ± 1.15^b	155.15 ± 0.71^b	164.96 ± 0.56^b

Media \pm desviación estándar (n=3). Las medias con superíndice con la misma letra entre columnas no presentan diferencia significativa ($p < 0.05$) por la prueba de t-Student.

4.2. Cuantificación de ácidos clorogénicos en extracto de café verde

El contenido de ácidos clorogénicos del extracto de granos de café verde el cual fue de 25.54 mg/g se muestra en la Tabla 4. El resultado obtenido fue similar al reportado por Garcia-Solis et al., [33] quienes encuentran valores de ácidos clorogénicos en granos de café verde de 21.78 mg/g.

Se han reportado valores de ácidos clorogénicos en granos de café verde con intervalos entre 3.01 mg/g y 27.74 mg/g [42], las diferencias que se encuentran son principalmente por la variedad, especie del café y el método de extracción.

4.2.1. Actividad antioxidante del extracto de café verde

Las técnicas utilizadas evalúan diferentes condiciones por lo que los resultados son complementarios. El ECV contó con un valor de actividad antioxidante de $435.56 \pm 0.83 \mu\text{M Trolox/g}$ con el método ABTS y de $381.18 \pm 0.91 \mu\text{M Trolox/g}$ con el método DPPH. Esto se debe a que el extracto de granos de café verde es hidrófilo, lo que sugiere que tuvo mayor solubilidad en las condiciones para el método de ABTS, ya que este método se relaciona con antioxidantes hidrofílicos [41].

Murthy y Madhava-Naidu [43] realizaron un estudio de la composición del grano café verde y encontraron en la especie Arábica

porcentajes entre 76 y 92 %, los autores concluyen que los extractos de café verde tienen un efecto notable en la eliminación de radicales libres, lo cual está atribuido a los compuestos fenólicos, pues estos tienen capacidad de donar hidrógeno desde sus grupos hidroxilos a los radicales libres obteniendo un producto estable. Se han

reportado valores de actividad antioxidante que van de 296 – 688 μM Trolox/g [44, 47]. La variabilidad del porcentaje de la actividad antioxidante en el café verde se da por diversos factores, como lo pueden ser: variedad, procedencia, tipo de cultivo, entre otras [42].

Tabla 4. Análisis de compuestos antioxidantes del extracto del café verde.

Muestra	ABTS (μM Trolox/g)	DPPH (μM Trolox/g)	Ácidos clorogénicos HPTLC (mg/g)
ECV	435.56 \pm 0.83	381.18 \pm 0.91	21.78 \pm 1.08

Media \pm desviación estándar (n=3). significativa ($p < 0.05$) por la prueba de t-Student.

4.3. Optimización de la funcionalización por impregnación

De los factores tomados en cuenta para la funcionalización mediante el diseño experimental Taguchi, considerando como variable de respuesta la cantidad de ácidos clorogénicos impregnados en las fibras, se obtuvo la gráfica de la media de los datos con cada factor (Figura 4). La temperatura fue el factor de mayor influencia para la variabilidad de la concentración de los ácidos clorogénicos impregnados, esto se debe a que

en un proceso de impregnación la temperatura es un factor que aumenta la solubilidad de los biocompuestos, lo que permite que una mayor parte del ácido clorogénico se absorba en la superficie de la fibra, además, el aumento de la temperatura permite que las moléculas tanto del ácido clorogénico como de las fibras de bagazo de agave tengan una mayor movilidad molecular favoreciendo la penetración del ácido clorogénico a la estructura de las fibras y por ende una mayor interacción entre ambos [17].

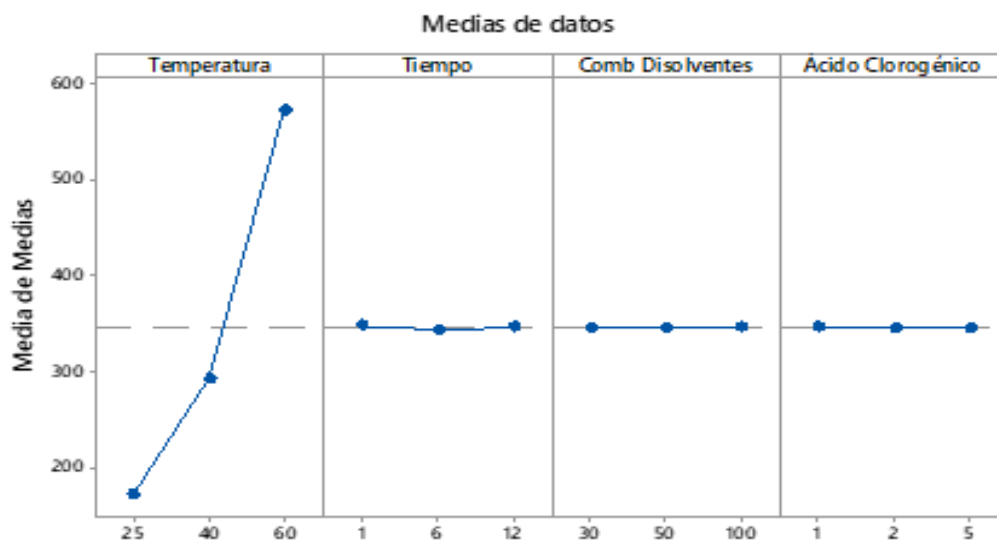


Figura 4. Variación de la concentración de ácido clorogénico por efecto de las principales variables del proceso de impregnación como método de funcionalización de las fibras de bagazo (mezcal y fructanos).

Para ambas fibras funcionalizadas (FBAFI y FBAMI) la mejor combinación de variables fue 60 °C, 6 h, una combinación de disolventes 70% agua y 30% etanol y 5mg de ácidos clorogénicos. Para FBAFI se reportó un contenido de ácidos clorogénicos de 650.6 µg/g y para la fibra de bagazo de agave obtenida de la producción de mezcal impregnada un contenido de ácidos clorogénicos de 425.8 µg/g. Las fibrillas naturales de celulosa presentan estructuras multicelulares en las que la unión de varias células individuales se da por polímeros naturales como la lignina y la hemicelulosa, la cavidad vacía que generan estas uniones celulares se conoce como lumen y la presencia de este disminuye la densidad aparente [48]. Después del proceso de hidrólisis al que se someten los dos tipos de fibras, la FBAFI conserva de mejor manera los poros característicos del lumen del material lignocelulósico contando con un área superficial mayor lo que hace que la permeabilidad de los ácidos clorogénicos aumente.

4.3.1. Fibras de bagazo de agave funcionalizadas

La combinación de tiempo y temperatura influyen directamente en la impregnación como se puede observar en la Figura 5 y en la Figura 6; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, esto se debe a que, como se mencionó anteriormente, la temperatura tiene una influencia significativa en la solubilidad de la sustancia activa pero también en su difusividad ya que mejora la penetración de los compuestos y posteriormente la impregnación [17, 49]. El tiempo de impregnación está relacionado con la afinidad de los ácidos clorogénicos (ACG) con la matriz de las fibras, los ACG son moléculas de carácter polar y esto puede conducir a una mejor afinidad con los polímeros presentes en la matriz lignocelulósica de las fibras, permitiendo la formación de puentes de hidrógeno, lo que hace que estos compuestos sean fuertemente retenidos por la matriz [50].

Los resultados fueron comparados con los obtenidos por Fernández-Ponce et al., [17] quienes reportan que las mejores condiciones de funcionalización fue a partir de las 5 h de impregnación con temperaturas entre 35 - 55 °C.

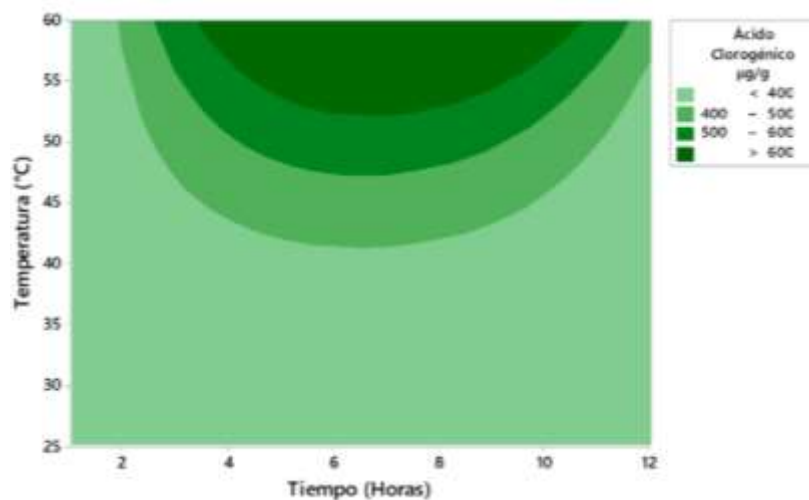


Figura 5. Superficie de respuesta de concentración de ácidos clorogénicos vs. tiempo, temperatura de la fibra de bagazo de agave obtenida de la extracción de fructanos funcionalizada.

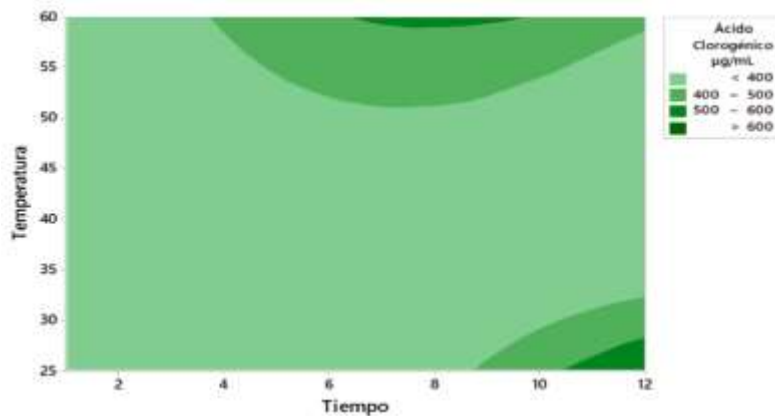


Figura 6. Superficie de respuesta de concentración de ácidos clorogénicos vs. tiempo, temperatura de la fibra de bagazo de agave obtenida de la producción de mezcal impregnada.

4.3.3. Actividad antioxidante de fibras de bagazo funcionalizadas

Los resultados del contenido de compuestos antioxidantes de las fibras impregnadas se observan en la Tabla 5. Para ambas fibras impregnadas (FBAFI y FBAMI) se reportó un aumento de la actividad antioxidante en comparación a las fibras sin impregnar de cada proceso (Tabla 3), para FBAFI del 90.95% por el método ABTS y del 85.69% por el método DPPH y para FBAMI del 61.04% y del 73.25%; además, no se

encontraron diferencias significativas en el porcentaje de actividad antioxidante entre la FBAFI y la FBAMI. Lo que evidencia que se dio una funcionalización entre las fibras y los ácidos clorogénicos del café verde, ya que el aumento de la actividad antioxidante de FBAFI y FBAMI se da gracias a los grupos hidroxilo de los ácidos clorogénicos. Teniendo resultados similares a los reportados por Zhang et al., [15] quienes en fibra de algodón reportaron un aumento de la actividad antioxidante del 80.1% después de funcionalizar este material con fenoles.

Tabla 5. Análisis de compuestos antioxidantes de las fibras de bagazo funcionalizadas.

Muestra	Ácidos clorogénicos HPTLC ($\mu\text{g/g}$)	ABTS ($\mu\text{M Trolox/g}$)	DPPH ($\mu\text{M Trolox/g}$)
FBAFI	650.64 ± 1.52^a	425.23 ± 0.66^a	396.30 ± 1.02^a
FBAMI	425.82 ± 1.34^b	427.18 ± 0.91^a	391.61 ± 0.56^a

Media \pm desviación estándar (n=3). Las medias con superíndice con la misma letra entre columnas no presentan diferencia significativa ($p < 0.05$) por la prueba de t-Student.

a. Análisis de presencia de ácidos clorogénicos en las fibras funcionalizadas utilizando MCBL.

Las micrografías se analizaron utilizando el canal azul debido a que los ácidos clorogénicos presentan fluorescencia en el espectro azul de la luz visible, específicamente a los 449 nm [51].

En las micrografías de ambas fibras de bagazo se observa una mayor fluorescencia en las fibras impregnadas (Figura 7; **Error! No se encuentra el origen de la referencia.** (B) y (D)). Mediante un análisis de imagen se obtuvo el porcentaje correspondiente al área fluorescente en el que se obtuvo el porcentaje de aumento de la fluorescencia para ambas fibras, teniendo que para el caso de la FBAFI se obtuvo un aumento del 19.37% y la FBAMI un aumento del 18.29%.

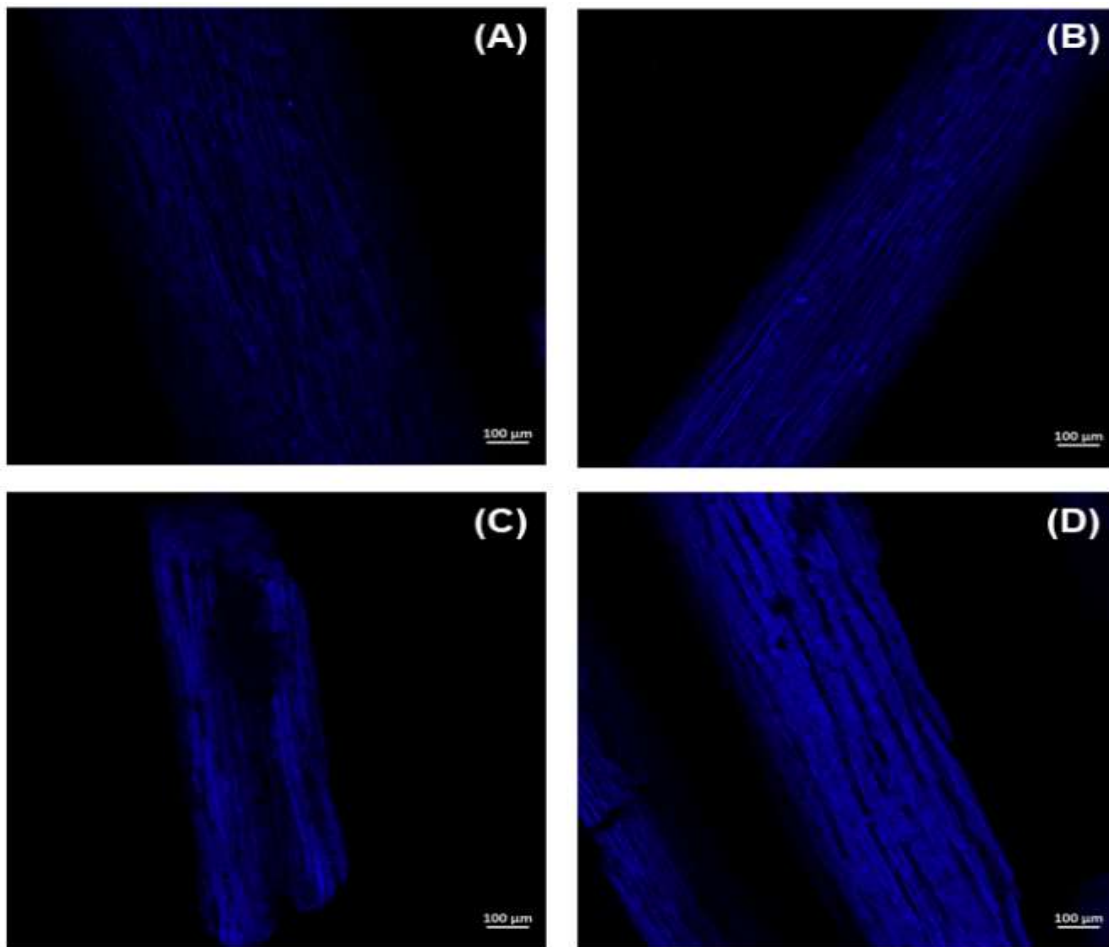


Figura 7. Micrografía confocal de barrido laser de las fibras de bagazo de la extracción de fructanos A) Sin impregnar B) Impregnada a 60 °C durante 6 horas y la obtenida de la producción de mezcal C) Sin impregnar D) Impregnada a 60 °C durante 6 horas.

b. Espectroscopia infrarroja de las fibras funcionalizadas.

En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** Figura 8 se presentan los espectros FT - IR de las fibras funcionalizadas a 60 °C durante 6 h. Se presenta una nueva banda en comparación con las fibras sin impregnar (Figura 3) en la región de 1490 - 1530 cm^{-1} correspondiente a la vibración y estiramiento del enlace C=C,

característico de los anillos aromáticos presentes en la estructura de los ácidos clorogénicos, indicando la presencia de este grupo funcional en las fibras. El resultado fue similar al reportado en el 2019 por Jiao, et al., [52] quienes observaron la presencia de un nuevo pico de absorción en la región del 1490 – 1524 cm^{-1} sugiriendo que se debe a la presencia de ácidos clorogénicos en las muestras del estudio.

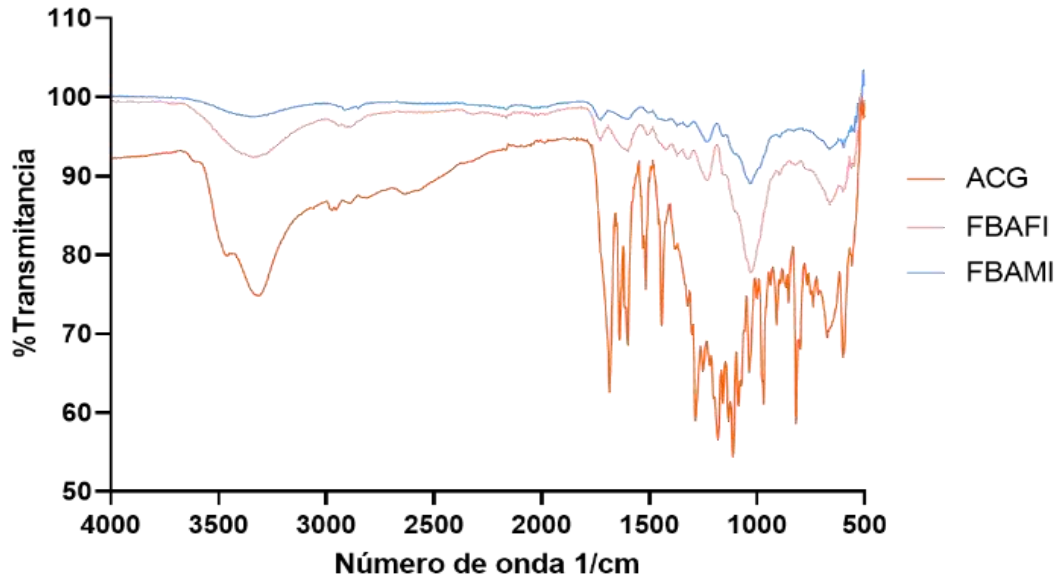


Figura 8. Espectro FT - IR de las fibra bagazo agave funcionalizadas (FBAFI y FBAMI).

Con base en el Análisis de componentes principales (ACP) (Figura 9), fue posible

clasificar las muestras utilizando como criterio el tiempo de impregnación.

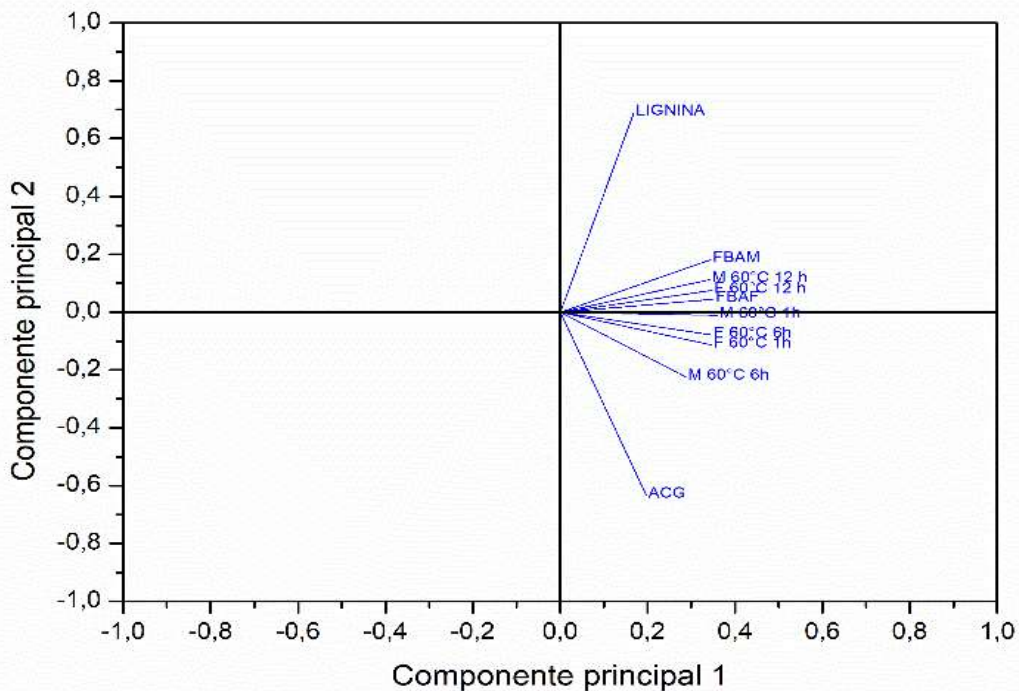


Figura 9. Análisis de componentes principales de las fibras de bagazo de ambas industrias sin impregnar e impregnadas a 60 °C durante 1, 6 y 12 horas usando solo la región del 1750 – 1530 cm⁻¹.

Se detectaron dos secciones específicas, una relacionada con la presencia de ácidos

clorogénicos y la otra con la presencia de lignina. Las FBAM impregnadas durante 1 y

6 horas y de igual manera las FBAF impregnadas durante las mismas horas (1 y 6) presentaron una mayor concentración de ácidos clorogénicos esto al predominar los valores negativos del primer componente.

Para el componente 2 las fibras de ambos procesos (FBAM y FBAF) sin impregnar e impregnadas durante 12 horas tiene una mayor relación con la lignina. Por otro lado, se puede apreciar que existe una diferencia entre los dos componentes principales, lo que indica que la impregnación está siendo favorable ya que las fibras se están funcionalizando con ácidos clorogénicos y no con otros compuestos como los fenoles de la degradación de la lignina en el caso de las fibras de bagazo de mezcal.

5. Conclusiones

Mediante la caracterización de las fibras de bagazo de *Agave angustifolia* Haw se pudo obtener que FBAF y FBAM contienen compuestos fenólicos que les proporciona actividad antioxidante, dependiendo del grado de hidrólisis del proceso del que provenga el bagazo.

Por otro lado, se constató que la técnica de impregnación por inmersión resultó eficaz para funcionalizar fibras vegetales con antioxidantes provenientes del café verde, siendo susceptible el método a variaciones de temperatura, tiempo de inmersión y factores como la solubilidad del compuesto activo, la difusión y su afinidad con la matriz. Obteniéndose interacciones químicas irreversibles entre el ácido clorogénico y los polisacáridos de la fibra del bagazo mediante el proceso de impregnación probado en el presente trabajo.

Por lo que la funcionalización de la fibra de bagazo de agave con antioxidantes de café verde podría tener diversas aplicaciones potenciales, como empaques antioxidantes y

antimicrobianos, textiles de fibras naturales para el cuidado de la piel y su uso como fibra dietaria funcional antioxidante.

6. Agradecimientos

Se agradece al consejo nacional de humanidades ciencias y tecnologías (CONAHCyT) por el apoyo económico con el que se logró la realización de este manuscrito, además del financiamiento dado con el proyecto de la Secretaría de Investigación y Posgrado SIP 20210222, 20220586 y 20231612.

7. Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

8. Referencias

- [1] L. Casas-Godoy y I. Barrera-Martínez, «Revalorización de residuos agroindustriales: Caso Jalisco», *Gobierno de Mexico*, 2021. <https://ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/Revalorizacion-de-residuos-agroindustriales--Caso-Jalisco/194> (accedido 21 de abril de 2022).
- [2] L. Caspeta, M. A. Caro-Bermúdez, T. Ponce-Noyola, y A. Martínez, «Enzymatic hydrolysis at high-solids loadings for the conversion of agave bagasse to fuel ethanol», *Applied Energy*, vol. 113, pp. 277-286, ene. 2014, doi: 10.1016/j.apenergy.2013.07.036.
- [3] Consejo Regulador del Tequila, «Producción total de tequila», *Consejo Regulador del Tequila*, 2010. <https://www.crt.org.mx/EstadisticasCR-Tweb/> (accedido 27 de mayo de 2023).
- [4] M. R. Rodríguez *et al.*, «La industria mezcalera en el año 2014 generó alrededor de 1,000 toneladas de bagazo

- en peso seco», *Interciencia*, vol. 35, n.º 7, pp. 515-520, 2010.
- [5] M. R. Crespo-González, D. R. González-Eguiarte, R. Rodríguez-Macías, L. A. Rendón-Salcido, J. I. Del Real-Laborde, y J. P. Torres-Morán, «Evaluación de la composta de bagazo de agave como componente de sustratos para producir plántulas de agave azul tequilero», *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, vol. 4, n.º 8, pp. 1161-1173, dic. 2013.
- [6] D. Castillo-Quiroz, J. T. Sáenz-Reyes, M. Narcia-Velasco, y J. A. Vázquez-Ramos, «Propiedades físico-mecánicas de la fibra de Agave lechuguilla Torr. de cinco procedencias bajo plantaciones», *RMCF*, vol. 4, n.º 19, pp. 78-91, jun. 2018, doi: 10.29298/rmcf.v4i19.380.
- [7] J. Cruz y R. Fanguero, «Surface Modification of Natural Fibers: A Review», *Procedia Engineering*, vol. 155, pp. 285-288, ene. 2016, doi: 10.1016/j.proeng.2016.08.030.
- [8] C. S. Navas-Echenique, «Compuestos poliméricos reforzados con desechos agroindustriales regionales», Universidad Nacional de San Juan, 2019. [En línea]. Disponible en: https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/84607/CONICET_Digital_Nro.a119c867-0b9b-4fe6-8042-967d0a67338a_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- [9] F. Surco-Laos, M. Valle-Campos, E. Loyola, M. Dueñas, y C. Santos, «Actividad antioxidante de metabolitos de flavonoides originados por la microflora del intestino humano», *Revista de la Sociedad Química del Perú*, vol. 82, n.º 1, pp. 29-37, ene. 2016.
- [10] Z. Fang y B. Bhandari, «Encapsulation of polyphenols – a review», *Trends in Food Science & Technology*, vol. 21, n.º 10, pp. 510-523, oct. 2010, doi: 10.1016/j.tifs.2010.08.003.
- [11] M. A. Puertas-Mejía, P. Villegas-Guzmán, y B. Alberto Rojano, «Borra de café colombiano (*Coffea arabica*) como fuente potencial de sustancias con capacidad antirradicales libres in vitro», *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, vol. 18, n.º 3, pp. 469-478, sep. 2013.
- [12] J. M. Carbonell-Capella, M. Buniowska, F. J. Barba, M. J. Esteve, y A. Frigola, «Analytical Methods for Determining Bioavailability and Bioaccessibility of Bioactive Compounds from Fruits and Vegetables: A Review», *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 13, n.º 2, pp. 155-171, 2014, doi: 10.1111/1541-4337.12049.
- [13] S. Vigneshwaran *et al.*, «Recent advancement in the natural fiber polymer composites: A comprehensive review», *Journal of Cleaner Production*, vol. 277, p. 124109, dic. 2020, doi: 10.1016/j.jclepro.2020.124109.
- [14] C. M. Ewulonu, X. Liu, M. Wu, y H. Yong, «Lignin-Containing Cellulose Nanomaterials: A Promising New Nanomaterial for Numerous Applications», *Journal of Bioresources and Bioproducts*, vol. 4, n.º 1, pp. 3-10, feb. 2019, doi: 10.21967/jbb.v4i1.186.
- [15] W. Zhang, Q. Zeng, y R.-C. Tang, «Gallic acid functionalized polylysine for endowing cotton fiber with antibacterial, antioxidant, and drug delivery properties», *International Journal of Biological Macromolecules*,

- vol. 216, pp. 65-74, sep. 2022, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.06.186.
- [16] C. Cejudo-Bastante *et al.*, «Application of a Natural Antioxidant from Grape Pomace Extract in the Development of Bioactive Jute Fibers for Food Packaging», *Antioxidants (Basel)*, vol. 10, n.º 2, p. 216, feb. 2021, doi: 10.3390/antiox10020216.
- [17] M. T. Fernández-Ponce, E. Medina-Ruiz, L. Casas, C. Mantell, y E. J. Martínez de la Ossa-Fernández, «Development of cotton fabric impregnated with antioxidant mango polyphenols by means of supercritical fluids», *The Journal of Supercritical Fluids*, vol. 140, pp. 310-319, oct. 2018, doi: 10.1016/j.supflu.2018.06.022.
- [18] P. C. Hernández-Del Castillo, J. Oliva, y V. Rodríguez-Gonzalez, «An eco-friendly and sustainable support of agave-fibers functionalized with graphene/TiO₂:SnO₂ for the photocatalytic degradation of the 2,4-D herbicide from the drinking water», *Journal of Environmental Management*, vol. 317, p. 115514, sep. 2022, doi: 10.1016/j.jenvman.2022.115514.
- [19] A. Bermúdez-Oria, G. Rodríguez-Gutiérrez, Á. Fernández-Prior, B. Vioque, y J. Fernández-Bolaños, «Strawberry dietary fiber functionalized with phenolic antioxidants from olives. Interactions between polysaccharides and phenolic compounds», *Food Chemistry*, vol. 280, pp. 310-320, may 2019, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.12.057.
- [20] R. Berni, G. Cai, J.F. Hausman y G. Guerriero, «Plant Fibers and Phenolics: A Review on Their Synthesis, Analysis and Combined Use for Biomaterials with New Properties», *Fibers*, vol. 7, n.º 80, 2019, doi.org/10.3390/fib7090080
- [21] B. Holst y G. Williamson, «Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants», *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 19, n.º 2, pp. 73-82, abr. 2008, doi: 10.1016/j.copbio.2008.03.003.
- [22] I. Goñi, M. E. Díaz-Rubio, J. Pérez-Jiménez, y F. Saura-Calixto, «Towards an updated methodology for measurement of dietary fiber, including associated polyphenols, in food and beverages», *Food Research International*, vol. 42, n.º 7, pp. 840-846, ago. 2009, doi: 10.1016/j.foodres.2009.03.010.
- [23] C. Holland, P. Ryden, C.H. Edwards, y M.M.L. Grundy, «Plant cell walls: Impact on nutrient bioaccessibility and digestibility», *Foods*, vol. 9, n.º 2, pp.201, 2020, doi.org/10.3390/foods9020201
- [24] E. Espino, M. Cakir, S. Domemek, A. D. Román-Gutiérrez, N. Belgacem, y J. Bras, «Isolation and characterization of cellulose nanocrystals from industrial by-products of Agave tequilana and barley», *Industrial Crops and Products*, vol. 62, pp. 552-559, dic. 2014, doi: 10.1016/j.indcrop.2014.09.017.
- [25] Y. Rosas-Hernández, L. A. García-Serrano, D. Tapia-Maruri, A. R. Jiménez-Aparicio, B. H. Camacho-Díaz, y M. L. Arenas-Ocampo, «Optimization of the Microwave-Assisted Ethanosolv Extraction of Lignocellulosic Compounds from the Bagasse of Agave angustifolia Haw Using the Response Methodology», *J. Agric. Food Chem.*, vol. 66, n.º 13, pp.

- 3533-3540, abr. 2018, doi: 10.1021/acs.jafc.7b04627.
- [26] H. M. Hernández-Hernández, J. J. Chanona-Pérez, A. Vega, P. Ligeró, R. R. Farrera-Rebollo, J. A. Mendoza-Pérez y N. G. Vera, «Spectroscopic and microscopic study of peroxyformic pulping of agave waste», *Microscopy and Microanalysis*, vol 22, n.º 5, pp. 1084-1097, 2016, doi:10.1017/S1431927616011818.
- [27] C. Buitrago-Arias, M. L. Arenas-Ocampo, y B. H. Camacho-Díaz, «Estudio de un sistema acarreador constituido por fructanos y material lignocelulósico para el transporte de compuestos bioactivos», 2017. Accedido: 12 de agosto de 2023. [En línea]. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx/xmlui/handle/123456789/24297>
- [28] P. Klason, «Contributions to a more exact knowledge of the chemical composition of spruce wood, part I. Pap», *Trade J*, vol. 74, n.º 18, pp. 45-51, 1922.
- [29] I. R. Ramos-Sevilla, «Caracterización química de tres residuos lignocelulósicos generados en la región del Cantón Alausí», mar. 2018. Accedido: 16 de agosto de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Caracterizaci%C3%B3n-qu%C3%ADmica-de-tres-residuos-generados-Sevilla/0527d8ab2e013da040cd36ce572b3b3b481133a4>
- [30] D. Ibarra-Cantún, M. E. Ramos-Cassellis, M. A. Marín-Castro, y R. C. Castelán-Vega, «Secondary Metabolites and Antioxidant Activity of the Solid-State Fermentation in Apple (*Pirus malus* L.) and Agave Mezcalero (*Agave angustifolia* H.) Bagasse», *Journal of Fungi*, vol. 6, n.º 3, Art. n.º 3, sep. 2020, doi: 10.3390/jof6030137.
- [31] A. C. C. M. Castro *et al.*, «Green coffee seed residue: A sustainable source of antioxidant compounds», *Food Chemistry*, vol. 246, pp. 48-57, abr. 2018, doi: 10.1016/j.foodchem.2017.10.153.
- [32] M. Rufino, R. Alves, E. Brito, S. Morais, C. Sampaio, y J. Pérez-Jimenez, «Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical ABTS+», *Embrapa Agroindústria Tropical. Comunicado Técnico*, vol. 127, ene. 2007.
- [33] S. E. García-Solis *et al.*, «Microencapsulation of the green coffee waste extract with high antioxidant activity by spray-drying», *Journal of Food Processing and Preservation*, vol. 46, n.º 10, p. e16864, oct. 2022, doi: 10.1111/jfpp.16864.
- [34] L. L. Mensor *et al.*, «Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method», *Phytotherapy Research*, vol. 15, n.º 2, pp. 127-130, 2001, doi: 10.1002/ptr.687.
- [35] AACC, «Approved Methods of Analysis (11th ed.). Method 02–03.02. Soxhlet—Rapid Method.», 1999. <https://www.cerealsgrains.org/resources/Methods/Pages/02Acidity.aspx> (accedido 8 de julio de 2023).
- [36] G. Crețu, G. E. Morlock, A. Raluca-Grosu, y A. C. Nechifor, «(PDF) A high-performance thin-layer

- chromatographic method for chlorogenic acid and hyperoside determination from berry extracts», *Romanian Biotechnological Letters*, vol. 18, n.º 5, 2013. Accedido: 30 de junio de 2023. [En línea]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/285957561_A_high-performance_thin-layer_chromatographic_method_for_chlorogenic_acid_and_hyperoside_determination_from_berry_extracts
- [37] M. Hidalgo-Reyes, M. Caballero-Caballero, L. H. Hernández-Gómez, y G. Urriolagoitia-Calderón, «Chemical and morphological characterization of Agave angustifolia bagasse fibers», *Botanical Sciences*, vol. 93, n.º 4, pp. 807-817, 2015, doi: 10.17129/botsci.250.
- [38] M. Chávez-Sifontes y m. Dómine, «Lignina, estructura y aplicaciones: Métodos de despolimerización para la obtención de derivados aromáticos de interés industrial», *Avances en Ciencias e Ingeniería*, vol. 4, pp. 15-46, ene. 2013.
- [39] M. Avello y M. Suwalsky, «Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección», *Atenea (Concepto)*, n.º 494, 2006, doi: 10.4067/S0718-04622006000200010.
- [40] C. De Dios-Naranjo *et al.*, «Aislamiento y caracterización de celulosas obtenidas de fibras de Agave salmiana aplicando dos métodos de extracción ácido-alcali», *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, vol. 7, n.º 1, pp. 31-43, feb. 2016.
- [41] S. García-Solis, «Encapsulación y evaluación de la liberación in vitro de extracto del residuo de café verde», Instituto Politécnico Nacional, Escuela de ciencias biológicas, Ciudad de México, 2022.
- [42] B. Cheng, H. E. Smyth, R. J. Henry, y A. Furtado, «Influence of genotype and environment on coffee quality», *Trends in Food Science & Technology*, vol. 57, pp. 20-30, nov. 2016, doi: 10.1016/j.tifs.2016.09.003.
- [43] P. S. Murthy y M. Madhava-Naidu, «Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review», *Resources, conservation, and recycling*, 2012, Accedido: 22 de abril de 2022. [En línea]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2012.06.005>
- [44] M. Jeszka-Skowron, E. Stanisz, y M. P. De Peña, «Relationship between antioxidant capacity, chlorogenic acids and elemental composition of green coffee», *LWT*, vol. 73, pp. 243-250, nov. 2016, doi: 10.1016/j.lwt.2016.06.018.
- [45] M. Madhava-Naidu, G. Sulochanamma, S. R. Sampathu, y P. Srinivas, «Studies on extraction and antioxidant potential of green coffee», *Food Chemistry*, vol. 107, n.º 1, pp. 377-384, mar. 2008, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.08.056.
- [46] S. C. Pereyra-Castro *et al.*, «Microfluidization and atomization pressure during microencapsulation process: Microstructure, hygroscopicity, dissolution and flow properties», *LWT*, vol. 96, pp. 378-385, oct. 2018, doi: 10.1016/j.lwt.2018.05.042.
- [47] E. Stelmach, P. Pohl, y A. Szymczycha-Madeja, «The content of Ca, Cu, Fe, Mg and Mn and antioxidant activity of green coffee brews», *Food Chemistry*, vol.

182, pp. 302-308, sep. 2015, doi:
10.1016/j.foodchem.2015.02.105.

vol. 154, pp. 129-136, ago. 2019, doi:
10.1016/j.postharvbio.2019.05.003.

[48] G. Cruz, P. Santiago, C. Braz, P. Selegim, I. Polikarpov, y P. Crnkovic, «Investigation of porosity, wettability and morphology of the chemically pretreated sugarcane bagasse», nov. 2013.

[49] A. M. A. Dias, M. E. M. Braga, I. J. Seabra, P. Ferreira, M. H. Gil, y H. C. de Sousa, «Development of natural-based wound dressings impregnated with bioactive compounds and using supercritical carbon dioxide», *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 408, n.º 1, pp. 9-19, abr. 2011, doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.01.063.

[50] C. Cejudo-Bastante, L. Casas-Cardoso, M. T. Fernández-Ponce, C. Mantell-Serrano, y E. J. Martínez de la Ossa-Fernández, «Characterization of olive leaf extract polyphenols loaded by supercritical solvent impregnation into PET/PP food packaging films», *The Journal of Supercritical Fluids*, vol. 140, pp. 196-206, oct. 2018, doi: 10.1016/j.supflu.2018.06.008.

[51] S. Navarro-Orcajada, A. Matencio, C. Vicente-Herrero, F. García-Carmona, y J. M. López-Nicolás, «Study of the fluorescence and interaction between cyclodextrins and neochlorogenic acid, in comparison with chlorogenic acid», *Sci Rep*, vol. 11, n.º 1, Art. n.º 1, feb. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-82915-9.

[52] W. Jiao, C. Shu, X. Li, J. Cao, X. Fan, y W. Jiang, «Preparation of a chitosan-chlorogenic acid conjugate and its application as edible coating in postharvest preservation of peach fruit», *Postharvest Biology and Technology*,