

Coordinadores

María de los Ángeles Camacho Ruiz

Filiberto Briseño Aguilar

Itzel Celeste Romero Soto

Leticia Lemus Cárdenas



Avances de la Ciencia y
la Tecnología para el
Desarrollo Sostenible
Tomo I

Investigación Permanente
Avances de la Ciencia y la Tecnología
para el Desarrollo Sostenible

Tomo I

Investigación Permanente Avances de la Ciencia y la Tecnología para el Desarrollo Sostenible

Tomo I



UNIVERSIDAD DE
GUADALAJARA
Red Universitaria de Jalisco



C E N T R O
UNIVERSITARIO
D E L N O R T E

Coordinadores
María de los Ángeles Camacho Ruiz
Filiberto Briseño Aguilar
Itzel Celeste Romero Soto
Leticia Lemus Cárdenas

Comité editorial

Mtro. Uriel Nuño Gutiérrez
Mtro. Juan Carlos Mercado Castellanos
Dr. José de Jesus Quintana Contreraras
Dra. María de los Ángeles Camacho Ruiz
Dr. Miguel Angel Paz Frayre
Mtra. Silvia Elena Mota Macías
Mtra. Wendy Fabiola Lara Galindo
Dra. Katya González Jiménez
Dr. Alfredo Leonardo Romero Sánchez
Mtra. Daylin Ortega Carulo
Mtra. Ibis Vianey Guzmán Pinedo
Dra. Rosa María Ortega Sánchez
Dr. Guillermo Aguilar Herver

Investigación Permanente

Avances de la Ciencia y la Tecnología para el Desarrollo Sostenible.
Volumen I

Primera edición, 2023.

D. R. © 2023 Universidad de Guadalajara
Centro Universitario del Norte
Carretera federal 23, km 191, C. P. 46200
Colotlán, Jalisco, México
Tels. (+52 499) 992 1333 / 992 0110
992-2466 / 992-2467 / 992 1170
<http://www.cunorte.udg.mx/>

Alba Sinaí Huízar Márquez Coordinación editorial

Vera Manzano
Corrección y cuidado editorial

Daniel Bautista / Prometeo Editores Diseño y diagramación



Este trabajo está autorizado bajo la licencia Creative Commons Atribución-NoComercialSinDerivadas 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND) lo que significa que el texto puede ser compartido y redistribuido, siempre que el crédito sea otorgado al autor, pero no puede ser mezclado, transformado, construir sobre él ni utilizado con propósitos comerciales. Para más detalles consultese <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed>.

ISBN Obra completa: 978-607-571-972-6 ISBN volumen 1:
978-607-571-973-3

Hecho en México / Made in Mexico

ÍNDICE

Introducción <i>María de los Ángeles Camacho Ruiz, Filiberto Briseño Aguilar, Itzel Celeste Romero Soto, Leticia Lemus Cárdenas</i>	7
Contaminación por polietileno en zonas de Nayarit <i>María-Marcela Robles-Machuca, Susana-Guadalupe Ramírez-Castro, Janeth-Alejandra Ponce-Díaz, Leticia Casas-Godoy</i>	12
Evaluación de la penicilina G acilasa para la biodegradación de antibióticos de uso veterinario: un análisis <i>in silico</i> <i>Christian Berenice Romero-Olivas, Luis Alonso Leyva-Soto, Tania Diaz-Vidal, Pablo Gortáres-Moroyoqui, Raúl Balam Martínez Pérez</i>	26
Fabricación de materiales avanzados con residuos agroindustriales para la desintoxicación de agua contaminada <i>Naveen Kumar Reddy Bogireddy</i>	41
Estudio comparativo de biocarbón generado a partir de bagazo de agave y cáscara de coco, y su aplicación como adsorbente en la remoción de Pb en agua <i>Mónica Avilez Fabian, Itzel Celeste Romero Soto, María de los Ángeles Camacho Ruiz, Norma Guadalupe González Montoya</i>	56
Plan de gestión de riesgos y puntos críticos de control en la purificación de agua <i>Verónica Fisher Salazar, Bertha María Rocío Hernández Suárez, Victor Manuel Rivera Arredondo, Rocío de los Ángeles García Hernández</i>	69

Determinación de buenas prácticas de higiene en establecimientos de venta de carne de pollo en el Mercado Juárez de Autlán	88
<i>Cristina Jiménez Camberos, Misael Enrique Pastrana Michel, Geremías Rodríguez Bautista, Demetrio Meza Rodríguez, Haidel Vargas Madriz, Pedro Fabian Grifaldo Alcántara</i>	
Tratamiento alcalino de lodos rojos acidificados de bauxita para la elaboración de material cerámico	100
<i>Sandra Patricia Reyes Ortiz</i>	
Potencial en síntesis orgánica de las lipasas de <i>Litopenaeus vannamei</i>: un análisis <i>in silico</i> e <i>in vitro</i>	122
<i>Ana María Bojórquez Sánchez, Lourdes Mariana Díaz Tenorio, Luis Alonso Leyva Soto, Raúl Balam Martínez Pérez</i>	
Fortalecimiento del manejo adecuado de los residuos generados durante el proceso de obtención de café y actividades afines como iniciativa de generación de microeconomía circular	140
<i>Elizabeth Rojas Amaya</i>	
Uso de harina de maíz reciclada para la elaboración de tortillas	151
<i>Rocío de los Ángeles García Hernández, Bertha María Rocío Hernández Suárez, Victor Manuel Rivera Arredondo</i>	
Uso de oleogeles para la sustitución de grasas hidrogenadas en la elaboración de pan	162
<i>César Alberto Roldán Cruz, Carolina Palmeros Exsome, Gabriela Blasco López, Rosario Adriana Reyes Díaz, Luis Alberto González Ortega</i>	
Identificación e interacción molecular de péptidos de camarones peneidos con potencial para el tratamiento de la obesidad: un análisis <i>in silico</i>	173
<i>Raúl Balam Martínez Pérez, Adriana Karelly Navarro Sajjas, Gislane Briceño Islas, Lourdes Mariana Díaz Tenorio</i>	

Introducción

La sostenibilidad se ha convertido en un tema crucial en la actualidad, pues se busca equilibrar el desarrollo económico y social con la protección del medio ambiente y la preservación de los recursos naturales para las generaciones futuras. En este contexto, la ciencia y la tecnología juegan un papel fundamental en la búsqueda de soluciones innovadoras que permitan avanzar hacia un modelo más sostenible. Este libro presenta una recopilación de doce capítulos de investigación que abordan diferentes problemáticas ambientales, de producción y consumo responsable y de salud y bienestar, en los que se proponen soluciones innovadoras que puedan contribuir al cumplimiento de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030 de la Organización de las Naciones Unidas (ONU).

El agua es un recurso fundamental para la vida, y su disponibilidad y calidad son esenciales para el bienestar humano y la conservación de los ecosistemas. Los ODS número 6 y número 14 de las Naciones Unidas se centran en garantizar el acceso al agua limpia y al saneamiento, así como en la conservación y uso sostenible de los océanos y sus recursos.

Las investigaciones sobre el tratamiento de agua contaminada pueden ayudar a desarrollar nuevas tecnologías para la identificación de contaminantes emergentes, la mejora de la eficacia de los procesos de tratamiento de agua existentes, la implementación de soluciones basadas en la naturaleza y la promoción de prácticas sostenibles en la gestión del agua y el saneamiento.

En este contexto, en el primer capítulo titulado “Contaminación por polietileno en zonas de Nayarit”, se busca identificar microorganismos capaces de degradar plásticos, lo que ayudaría a reducir el impacto de este contaminante en los ambientes submarinos y terrestres. Los autores describen el procedimiento que utilizaron para realizar aislamientos de distintas zonas contaminadas, así como su potencial enzimático relacionado al metabolismo de degradación de polietileno.

En el capítulo 2, “Evaluación de la penicilina G acilasa para la biodegradación de antibióticos de uso veterinario: un análisis *in silico*”, se aborda la problemática ambiental de la presencia de los antibióticos en las aguas residuales y su compleja degradación por métodos convencionales.

Se destaca la búsqueda de enzimas amidasas con potencial de degradación de antibióticos (florfenicol, cloranfenicol, oxitetraciclina y enrofloxacina) en agua residual porcícola de una manera sostenible y sin la generación de subproductos tóxicos que representen una fuente de contaminación alterna a la de la propia presencia de estos contaminantes. La penicilina G acilasa es una enzima amidasa con potencial para hidrolizar el enlace amida de la penicilina G y v, por lo que se destaca su capacidad en la bio-remediación de las aguas residuales para la degradación de antibióticos.

En el capítulo 3, que lleva por nombre “Fabricación de materiales avanzados con residuos agroindustriales para la desintoxicación de agua contaminada” se describe un nuevo proceso para la generación de nanopartículas metálicas para su uso en la descontaminación de aguas. Esto representa una alternativa viable y sostenible en la eliminación de contaminantes orgánicos que estén presentes en el agua. En el trabajo se describe el procedimiento que se siguió para la fabricación de estas nanopartículas y el mecanismo implementado para la eliminación de diferentes contaminantes orgánicos presentes en el agua.

En el capítulo 4, “Estudio comparativo de biocarbón generado a partir de bagazo de agave y cáscara de coco, y su aplicación como adsorbente en la remoción de pb en agua”, se aborda la problemática que los metales pesados presentes en el agua tienen sobre la salud humana y los organismos acuáticos. Se describe el aprovechamiento de residuos orgánicos abundantes en el estado de Jalisco, como el bagazo de agave y la cáscara de coco, para la elaboración de biocarbón y su aplicación en la eliminación de plomo en el agua. De esta manera, se les da un valor agregado a estos residuos y se contribuye a la reducción de un problema ambiental. En el trabajo se describen distintos agentes activadores (ácidos y bases) empleados para la preparación de este biocarbón y se evalúan diferentes tamaños de partícula para hacer más eficiente la eliminación de estos agentes contaminantes en el agua.

En el capítulo 5 se destaca la importancia de la aplicación de la ingeniería de calidad para garantizar la inocuidad del agua destinada al consumo humano. El trabajo, que lleva por título “Plan de gestión de riesgos y puntos críticos de control en la purificación de agua”, propone una metodología para evaluar los procesos de purificación de agua y establecer un plan que contribuye a mejorar la calidad del agua y a garantizar su saneamiento para su entrega final al consumidor. Los autores resaltan

que, partiendo desde el conocimiento de las fuentes de abastecimiento, se define el tipo de proceso necesario a aplicar para lograr la inocuidad del agua tratada como producto terminado.

Del mismo modo, el capítulo 6, titulado “Determinación de buenas prácticas de higiene en establecimientos de venta de carne de pollo en el Mercado Juárez de Autlán”, se enfoca en la evaluación de las prácticas de manufactura de la carne de pollo en un mercado y su cumplimiento con la normatividad sanitaria. El estudio destaca la importancia del cuidado del agua en el proceso de manipulación de la carne de pollo y la necesidad de asegurar prácticas higiénicas adecuadas para proteger la salud pública. Los resultados del trabajo arrojan evidencias de los distintos aspectos a cuidar para desarrollar la actividad desde el ámbito sustentable.

La gestión adecuada de los residuos es fundamental para alcanzar los ODS establecidos por la ONU. En este sentido, los capítulos siete, ocho, nueve y diez presentan alternativas innovadoras y sostenibles para la gestión de residuos en diferentes sectores industriales, lo que contribuye directamente a la promoción de la economía circular y la reducción del impacto ambiental.

El capítulo 7, que lleva por título “Tratamiento alcalino de lodos rojos acidificados de bauxita para la elaboración de material cerámico”, presenta una alternativa interesante para la gestión de residuos industriales, específicamente los lodos rojos de la producción de aluminio. Este trabajo destaca la importancia de encontrar formas de reutilizar y reciclar materiales que de otra manera podrían tener un impacto ambiental negativo. La reutilización de los lodos rojos en la producción de materiales cerámicos es una alternativa prometedora que podría reducir el impacto ambiental y promover la sostenibilidad.

Por otro lado, el capítulo 8, “Potencial en síntesis orgánica de las lispasas de *Litopenaeus vannamei*: un análisis *in silico* e *in vitro*”, se enfoca en la obtención de enzimas hidrolíticas a partir de residuos de la industria camaronera. La reutilización de residuos y subproductos en la industria es una estrategia importante para reducir el impacto ambiental y mejorar la sostenibilidad. En este caso, los autores proponen aprovechar los residuos de cefalotórax del camarón para obtener enzimas que pueden ser utilizadas en la síntesis de productos químicos para distintas industrias. Esta estrategia tiene un impacto directo en la promoción de la economía circular y en la reducción de residuos en la industria.

En el capítulo 9, “Fortalecimiento del manejo adecuado de los residuos generados durante el proceso de obtención de café y actividades afines como iniciativa de generación de microeconomía circular”, los autores proponen una solución innovadora y sostenible para el manejo de residuos en una finca cafetalera en Colombia, que contribuye al logro de los ODS relacionados con la sostenibilidad ambiental y el desarrollo económico. La propuesta consiste en la utilización de la pulpa de café y otros residuos orgánicos en un biocompost para obtener fertilizante que será integrado al cultivo de la planta. Además, se identificaron rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas, a partir de la pulpa del café, que pueden ser integradas al ecosistema del suelo de la finca para aumentar la productividad del sistema agrícola. Esta iniciativa es importante porque, al utilizar los residuos orgánicos para producir fertilizante y promover el crecimiento de las plantas, se reduce la cantidad de residuos que terminan en los vertederos, con lo que se disminuye así el impacto ambiental. Además, el uso de fertilizantes orgánicos en lugar de químicos reduce la contaminación del suelo y el agua y contribuye a la mitigación del cambio climático al reducir las emisiones de gases de efecto invernadero.

En el capítulo 10, “Uso de harina de maíz reciclada para la elaboración de tortillas”, los autores proponen una estrategia para reducir el desperdicio este producto y producir tortillas a bajo costo, manteniendo su textura y aumentando su calidad nutricional y su vida de anaquel. La utilización de harina de maíz reciclada permite reducir la cantidad de residuos generados en la producción de alimentos, y también puede generar oportunidades para el emprendimiento y la economía circular.

En los capítulos 11 y 12 del libro, se presentan soluciones innovadoras y sostenibles para abordar problemas de salud importantes, con lo que contribuye al logro del ODS número 3, que busca garantizar una vida sana y promover el bienestar para todos.

En el capítulo 11, “Uso de oleogeles para la sustitución de grasas hidrogenadas en la elaboración de pan”, se presenta una alternativa saludable y sostenible para sustituir uno de los ingredientes utilizados en la elaboración de pan. La propuesta es el uso de oleogeles a base de cera de abeja en lugar de grasas saturadas y trans, produciendo resultados comparables a nivel de textura y sabor en los productos de panadería, mientras que reduce los efectos negativos para la salud.

El capítulo 12, “Identificación e interacción molecular de péptidos de camarones peneidos con potencial para el tratamiento de la obesidad: un análisis *in silico*”, destaca el interés de la ciencia por preservar el bienestar humano a través de la identificación de nuevas soluciones para tratar la obesidad. Esta es un problema de salud pública que afecta a una gran cantidad de personas en todo el mundo y puede causar problemas de salud graves, como enfermedades cardiovasculares y diabetes. En este capítulo, los autores utilizan tecnologías bioinformáticas para explorar el potencial de los péptidos de camarones peneidos en el tratamiento de la obesidad. A partir del análisis de 99 secuencias peptídicas de *Litopenaeus vannamei*, se identificaron dos péptidos con un alto potencial para inhibir la lipoproteína lipasa y las lipasas gástricas, lo que podría ser utilizado en futuros estudios de tratamiento de la obesidad. Este capítulo tiene un importante aporte al ODS 3, que busca garantizar una vida sana y promover el bienestar para todos en todas las edades, ya que la obesidad es un problema de salud pública que afecta a muchas personas y puede tener consecuencias graves para la salud.

Es importante destacar que la sostenibilidad es un tema interdisciplinario que requiere la colaboración de diversas áreas del conocimiento, así como la participación de la sociedad en su conjunto. La investigación y la innovación en ciencia y tecnología son fundamentales para avanzar hacia un modelo de desarrollo sostenible, pero también es necesario que los gobiernos, las empresas y los ciudadanos adopten prácticas y comportamientos más responsables y respetuosos con el medio ambiente y los recursos naturales.

María de los Ángeles Camacho Ruiz
Filiberto Briseño Aguilar
Itzel Celeste Romero Soto
Leticia Lemus Cárdenas

Contaminación por polietileno en zonas de Nayarit

María-Marcela ROBLES-MACHUCA*
Susana-Guadalupe RAMÍREZ-CASTRO**
Janeth-Alejandra PONCE-DÍAZ***
Leticia CASAS-GODOY****

Resumen

La contaminación por plásticos es una de las principales problemáticas ambientales en la actualidad. Los plásticos de mayor importancia económica son el poliuretano (PUR), polietileno (PE), poliamida (PA), poliestireno (PS), cloruro de polivinilo (PVC), polipropileno (PP) y tereftalato de polietileno (PET) —este último es el de mayor abundancia—. No obstante, el PE, en su versión de baja densidad (PEBD), es además un plástico contaminante en el aire al ser emisor de gases nocivos al medio ambiente, lo que centra la atención en la necesidad de su biodegradación. Tras los hallazgos en la degradación de pet obtenidos con el uso de *Ideonella sakaiensis* 201-F6, se han buscado alternativas para la biodegradación por medio del uso de microorganismos presentes en zonas contaminadas. El presente trabajo busca aislar e identificar microorganismos presentes en PE en sus dos versiones (PEBD y PEAD) proveniente de zonas de Nayarit con alta contaminación por plásticos. Estos microorganismos son potenciales en la degradación de PE y candidatos para subsecuentes evaluaciones enzimáticas y para determinaciones de la biodegradabilidad en plásticos. De las

* Dra. María-Marcela Robles-Machuca, marcela.robles@uan.edu.mx, ORCID 0000-0003-1307-0609; QFB. Tecnología de Alimentos, Secretaría de Investigación y Posgrado, Universidad Autónoma de Nayarit, Tepic, 63110, Nayarit, Mexico.

** Susana-Guadalupe Ramírez-Castro, susana.castro@uan.edu.mx Tecnología de Alimentos, Secretaría de Investigación y Posgrado, Universidad Autónoma de Nayarit, Tepic, 63110, Nayarit, Mexico.

*** Janeth-Alejandra Ponce-Díaz janeth.ponce@uan.edu.mx. Tecnología de Alimentos, Secretaría de Investigación y Posgrado, Universidad Autónoma de Nayarit, Tepic, 63110, Nayarit, Mexico.

**** Dra. Leticia Casas-Godoy lcasas@ciatej.mx, ORCID 0000-0002-0566-5824, Biotecnología Industrial, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C., Camino el arenero 1227, El Bajío del arenal, 45019, Zapopan, Jalisco, Mexico.

cuatro zonas trabajadas, se obtuvieron 94 muestras con diferentes naturalezas del plástico acompañado de suelo o agua. Los microorganismos se aislaron en medios no selectivos para luego ser identificados por espectrometría de masas. Las cepas presentes asociados a los plásticos de pebd y pead fueron clasificadas según su dominio y clase: 98 % fueron bacterias y el resto pertenecían al dominio eukarya. Las clases predominantes en estos plásticos fueron Bacilli y gamaproteobacteria, que presentaron 58 % y 41 % respectivamente.

Palabras clave: plásticos, biodegradación, polietileno, *Ideonella sakaiensis*.

Introducción

La contaminación por plásticos ha ido incrementando en los últimos años debido a los millones de toneladas de residuos de plástico que se acumulan anualmente en ambientes terrestres o marinos, al mal reciclaje y a su uso único. La alta demanda de este material, la falta de un tratamiento efectivo que se le da a los residuos, aunado a un limitado reciclaje, conllevan a un problema de contaminación mundial; todos estos desechos plásticos tarde o temprano llegan a ríos, mares, lagunas, etc., contaminan estos ecosistemas y causan daños irreversibles en la flora y fauna de la zona (Danso et al., 2019).

Los plásticos, como bien sabemos, son materiales sintéticos de elevado peso molecular, que por su complejidad suelen degradarse muy lentamente en el medio ambiente, por lo que se acumulan y su eliminación o reciclaje causan gran problema (PlasticsEurope & EPRO, 2019). Los plásticos comúnmente usados son polietileno (PE), poliuretano (PUR), poliamida (PA), poliestireno (PS), cloruro de polivinilo (PVC), polipropileno (PP) y, en mayor presencia, tereftalato de polietileno (PET).

El polietileno (PE) es el polímero más comúnmente utilizado en la industria; representa 34 % del plástico total en el mercado. El de baja densidad (PEBD) y de alta densidad (PEAD) son las versiones más utilizadas según su grado de ramificación del polímero etileno (Choudhury & Hashmi, 2020). El uso excesivo y la acumulación de productos hechos a base de PEBD, como bolsas de plásticos, al ser expuestos en tiraderos o vertederos liberan gases tóxicos que contaminan el medio ambiente y procavan enfermedades (Pramila & Ramesh, 2015). Asimismo, PEAD es

el residuo sólido no degradable más común que se encuentra entre el polietileno. Este plástico plantea un significativo problema ambiental.

En los últimos años se han buscado alternativas para la biodegradación de estos materiales por medio del uso de microorganismos. Se ha reportado que la cepa *Serratia marcescens* logró degradar 36 % del PEBD sin pretratar en un periodo de incubación de 70 días (Azeko et al., 2015). A su vez, se observó que dos cianobacterias, *Phormidium lucidum* y *Oscillatoria subbrevis*, mostraron la capacidad de degradar 30 % del peso inicial del PEBD, durante un período de 42 días. Sin embargo, la evidencia no respalda que la pérdida de peso fuera ocasionada en sí por la degradación del plástico (Sarmah & Rout, 2018). También, se ha estudiado el uso de las cepas fúngicas degradantes de PEAD aisladas de los desechos de polietileno vertidos en zonas costeras marinas, dentro de las cuales se han encontrado dos cepas fúngicas eficaces: *Aspergillus tubigensis* VRKPT₁ y *Aspergillus flavus* VRKPT₂ (Herrera Hoyos & Ospina Mateus).

La peroxidasa de manganeso (MNP), proveniente de los hongos que degradan la lignina llamados *Phanerochaete chrysosporium*, podría disminuir la resistencia a la tracción y el peso molecular promedio de la película de PE. Por otra parte, se encontró que la combinación de peroxidasa de soja (SBP) y peróxido de hidrógeno podría oxidar la superficie de la película de PEAD y a su vez disminuir la hidrofobicidad de la superficie (Ru et al., 2020). En el trabajo de Santo et al. (2013) se mostró que la lacasa extracelular que es secretada por la bacteria *Rhodococcus ruber* C208 podría oxidar las películas de PEBD, lo cual generaría grupos carbonilo y disminuiría el peso molecular. A pesar de que los estudios anteriores han identificado que esta peroxidasa y lacasa son capaces de catalizar la degradación de PE, sus mecanismos catalíticos en este proceso siguen sin estar claros (Ru et al., 2020).

En el presente trabajo se realizará la búsqueda de microorganismos con la capacidad de degradar desechos plásticos, partiendo del hallazgo publicado sobre *Ideonella sakaiensis*, que degrada el polímero pet como organismos modelo. La búsqueda de microorganismos se realizará en zonas endémicas húmedas de Nayarit. Se tomarán muestras sólidas, como desechos plásticos (botellas, bolsas plásticas, etc.), así como muestras líquidas y muestras de sedimento, esto con el fin de encontrar en estas zonas microorganismos que en base a su interacción con plásticos PEBD y PEAD tengan la capacidad de utilizarlo como fuente de carbono.

Metodología

Identificación de áreas de contaminación

Obtención y selección de la muestra

En el estado de Nayarit, se hicieron cinco muestreos de diferentes zonas, las cuales se seleccionaron en función del tipo de suelo, sistemas hidrológicos y el tiempo de depósito del plástico contaminante. El Sitio 1 corresponde a un tiradero clandestino a pie de carretera localizado en la localidad de Camichín de Jauja en Tepic, con al menos ocho años de haber iniciado (21.492611, -104.792650). En el Sitio 2 se ubicaron dos tiraderos cercanos al río Santiago que pasan por la localidad de Santa Cruz en el municipio de Santiago Ixcuintla (21.978044, -105.593076). El Sitio 3 concierne a plásticos con depósitos internos sobre las orillas de la laguna de Tepetiltic en el municipio de San Pedro Lagunillas (21.27429, -104.68568). Mientras tanto, en el municipio de San Blas se ubicaron dos sitios cercanos a los afluentes del manglar; el Sitio 4 compete al vertedero municipal ubicado en el ejido de Guadalupe Victoria (21.680840, -105.314956), y el Sitio 5 fue una zona altamente contaminada sobre las orillas del manglar (21.548652, -105.274271). Las coordenadas geográficas se reportaron en grados decimales, e indican la longitud y latitud del sitio.

Recolección y transporte de la muestra

Las muestras de plástico tipo polietileno de baja densidad (PEBD) y alta densidad (PEAD) con evidente grado de degradación —plásticos con variaciones físicas, donde a simple vista se observa una pérdida de brillo, color y formación de grietas— se recolectaron de forma manual bajo el método de muestreo tipo simple. La técnica contempló una toma de sedimento circundante al plástico de aproximadamente 100 gramos o una alícuota de 100 mililitros (ml) de agua si esta estuviera presente. Las muestras recolectadas se almacenaron en bolsas con cierre zip, se rotularon y se almacenaron a 4° C hasta su análisis.

Crecimiento y aislamiento de microorganismos

Crecimiento en medio no selectivo

Con la finalidad de obtener un crecimiento general de microorganismos de las diferentes muestras recolectadas, se realizó un enriquecimiento de cada una de ellas utilizando 3 gramos de un fragmento del plástico (P) si este venía solo o 2 gramos de plástico acompañado de 1 gramo de sedimento (PS), los cuales fueron colocados en un tubo estéril de 50 ml al cual se le adicionaron 30 ml de agua destilada estéril o 30 ml de alícuota del agua recuperada del sitio. El tubo fue agitado para poder suspender y recuperar la biomasa. Se llevaron a cabo diluciones seriadas, las cuales fueron inoculadas utilizando la técnica de extensión por varilla, tanto en agar YPD (agar YPD , 10 g/L de extracto de levadura, 20 g/L de peptona, 20 g/L de dextrosa y 20 g/L de agar bacteriológico) como en agar nutritivo (AN, 23 g/L y 5 g/L de agar bacteriológico), para ser incubadas a 30° C por 18-24 horas.

Método de aislamiento

A partir de las cajas madre de una muestra, se seleccionaron colonias morfológicamente distintas que se identificaron y ordenaron con base en el abecedario español. Cada colonia se cultivó mediante la técnica de estría cruzada en cajas frescas con su correspondiente matriz de agar a 30° C por 18-24 horas para obtener cepas aisladas.

Conservación de los microorganismos

El cepario de microorganismos aislados se almacenó en cajas Petri a 4° C con resiembras continuas. Por otro lado, la biomasa de las cepas se resguardó en crioviales que contienen medio stock en caldo (medio YPD o medio nutritivo, según corresponda) y 15 % de glicerol (v/v) a -80° C.

Identificación de los microorganismos

Identificación por MALDI-TOF

La identificación de las cepas aisladas se realizó mediante espectrometría de masas MALDI-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization–Time-Of-Flight*). Esta metodología genera espectros de proteínas propios de cada organismo, que fueron comparados con la base de datos BDAL (Bruker Daltonics Corporation), lo que permitió identificar las cepas a nivel de género y especie. A partir de cultivos menores a 36 horas, la biomasa de la cepa se distribuyó en un área determinada de la placa de acero inoxidable de 96 pocillos, seguido de la adición de 1 μ L de ácido fórmico al 70 % y después de 1 μ L de la matriz HCCA (ácido alfa-ciano-4-hidroxicinámico a 10 mg/mL). Las cepas fueron clasificadas por dominio, clase, género y especie de acuerdo con los diferentes sitios de muestreo.

Resultados y discusión

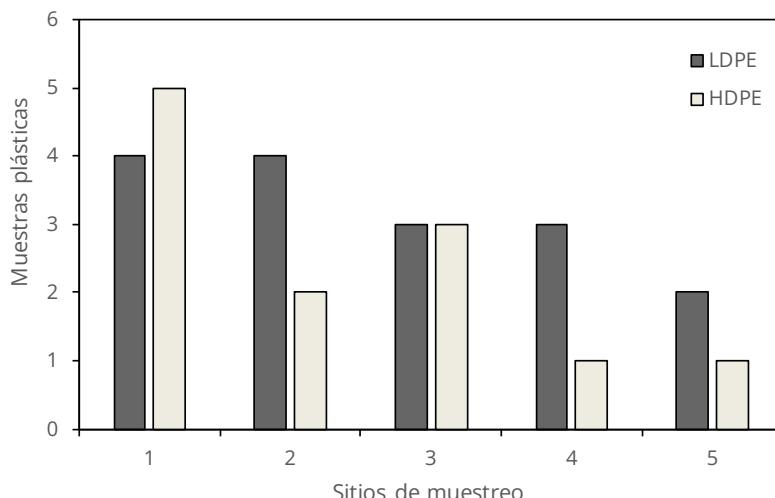
Zonas con alta contaminación por plásticos

Identificación de los plásticos contaminantes

En la figura 1 se muestra que en el vertedero clandestino localizado en la Arena Cora (sitio 1) se seleccionaron nueve muestras de plásticos tipo polietileno en evidente estado de degradación (figura 2), de las cuales cuatro corresponden a PEBD y cinco a PEAD. Por otro lado, dentro de las muestras que corresponden al río Santiago (sitio 2), estas se tomaron de dos zonas cercanas sobre el afluente del río; la primera cerca del poblado de Santa Cruz de las Haciendas y la segunda denominada como El Famoso, donde se recolectaron seis muestras de plástico polietileno. Ahora bien, en el caso de las muestras recolectadas en la laguna de Tepetiltic (sitio 3), se obtuvo un total de tres muestras de PEBD y PEAD, respectivamente. Finalmente, los muestreos realizados en el municipio de San Blas fueron encaminados a recolectar muestras que estuvieran en contacto con el manglar. Por consiguiente, se tomaron muestras tanto del vertedero municipal ubicado cerca de las zonas del manglar y de un tiradero clandestino a orillas del manglar. En el vertedero de San Blas (sitio 4) se tuvo acceso a tres

muestras de PEBD y una de PEAD, mientras que a orillas del manglar (sitio 5) se encontraron tres muestras de plástico polietileno.

Figura 1. Muestras de plásticos recolectados por sitio

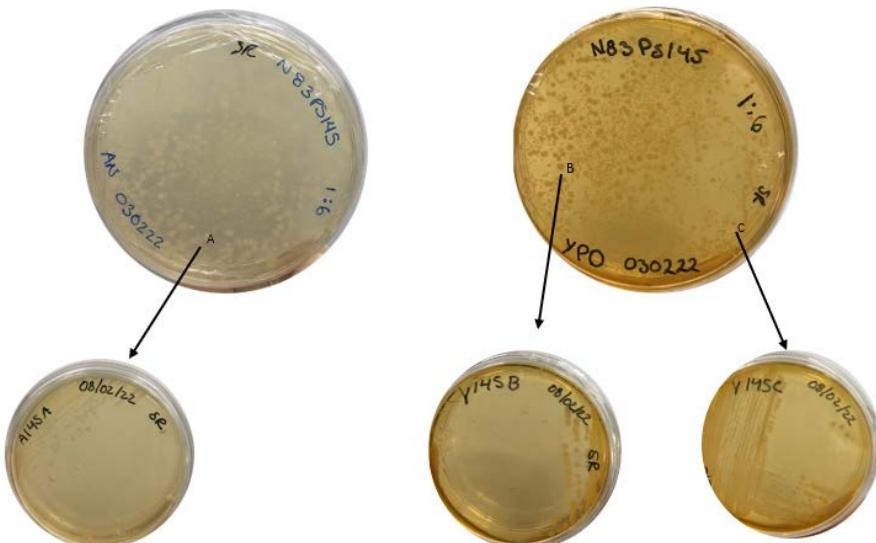


Elaboración propia.

Aislamiento de los microorganismos

En la figura 2 se muestra una representación donde se visualiza el crecimiento de colonias de una muestra enriquecida y sembrada en medios no selectivos (agar YPD y AN). Fue importante obtener un crecimiento uniforme que permitiera observar la variabilidad morfológica en las colonias. Con ello se hizo una identificación y selección utilizando factores entre ellas como su tamaño, color y forma en ambos medios.

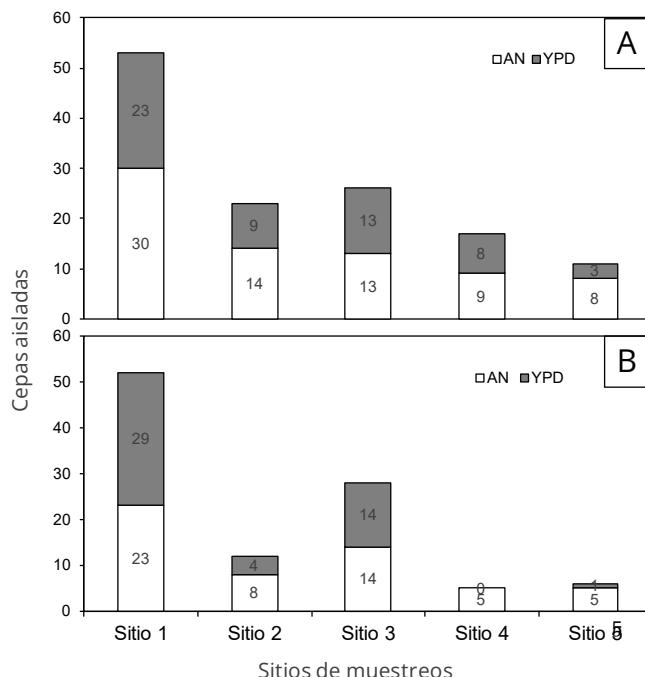
Figura 2. Representación de la técnica de aislamiento.
Muestras N83PS145 a una dilución de 1:6



Elaboración propia.

A partir de los sitios de muestreo se lograron aislar en medios no selectivos un total de 233 cepas, de las cuales 130 cepas se aislaron del plástico PEBD y 103 cepas de PEAD. En la figura 3, se muestra el número de cepas aisladas utilizando agar YPD y AN como medios de crecimientos indiferenciados, siendo mayor la cantidad de cepas obtenidas en medio AN. En los sitios 1 y 3, se obtuvo misma cantidad de cepas en ambos medios para los plásticos PEBD y PEAD. No obstante, en sitios como ríos (sitio 2) y manglar (sitios 4 y 5), para PEAD se obtuvo mayor cantidad de cepas en AN.

Figura 3. Número de cepas aisladas por sitio de muestreo



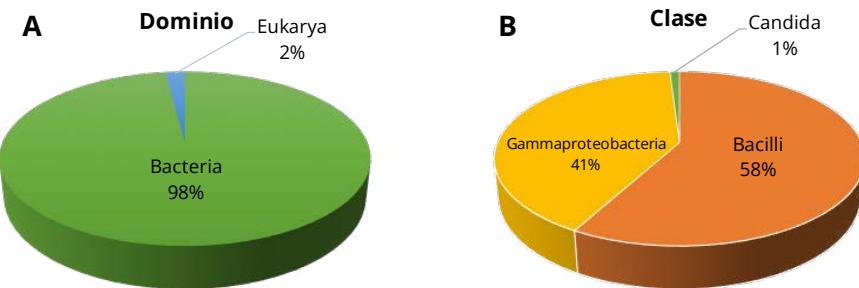
A) Cepas aisladas del plástico PEBD B) Cepas aisladas del plástico PEAD
Elaboración propia.

Identificación de microorganismos potenciales en la degradación de plásticos

Taxonomía de los microorganismos identificados

Las cepas obtenidas para todos los sitios de muestreos fueron clasificadas por dominio y clase como se puede observar en la figura 4. El 98 % de las cepas aisladas fueron bacterias, y el resto pertenecientes al dominio eukarya. Las clases predominantes fueron Bacilli y Gamaproteobacteria, representando el 58 % y 41 % respectivamente, de la colección total de cepas aisladas en diferentes zonas de Nayarit.

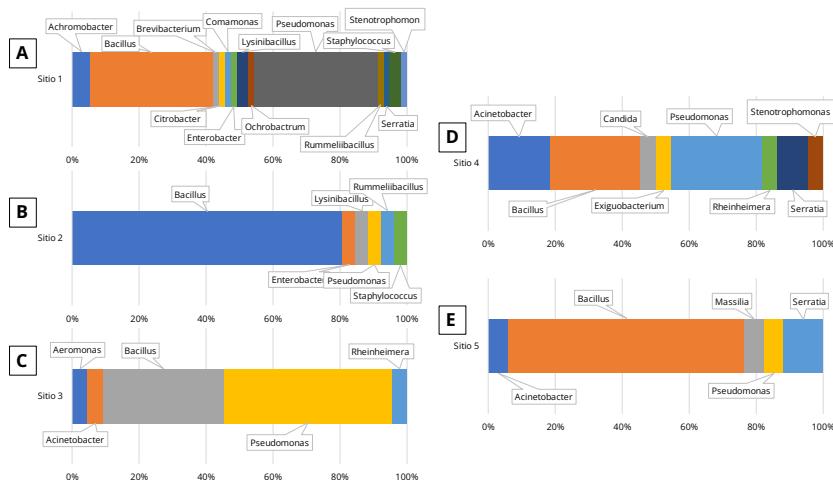
Figura 4. Taxonomía de los microorganismos identificados en Nayarit



A) En base al dominio. B) En base a la clase

Elaboración propia.

Se identificaron 19 géneros en todos los sitios muestreados en Nayarit de los cuales *Bacillus* y *Pseudomonas* fueron los más abundantes en los plásticos PEBD y PEAD. De las 233 cepas aisladas se lograron identificar a nivel género y especie 144 de ellas, que representan 43 especies diferentes. Los del Sitio 1 y 4 fueron donde se encontró mayor variedad de microorganismos presentes (figura 5).

Figura 5. Género de los microorganismos identificados según el sitio de muestreo

A) Sitio 1: vertedero Arena Cora, B) Sitio 2: río Santiago Ixquintla, C) Sitio 3: laguna de Tepetiltic, D) Sitio 4: vertedero San Blas, E) Sitio 5: manglar en San Blas.

Elaboración propia.

Microorganismos asociados a la degradación de plásticos

De las cepas obtenidas en cada uno de los sitios muestreados, se hizo una primera identificación de aquellas capaces de degradar PE, PEBD y PEAD. Para ello, las especies aisladas e identificadas fueron cotejadas con la base de datos de Biodegradación Microbiana de Plásticos (*Plastics Microbial Biodegradation Database*, PMBD, por sus siglas en inglés) y el árbol filogenético generado del trabajo de Gambarini et al. (2021) en su versión interactiva¹, con lo que se logró identificar el tipo de polietileno que son capaces de degradar (tabla 1).

De la colección de cepas del estado de Nayarit fue posible identificar 11 especies positivas degradadoras de polietileno y sus derivados. Aun se cuentan con dos hongos aislados y 87 cepas sin identificar.

1 <http://itol.embl.de/shared/gambarini>

Tabla 1. Cepas positivas en la degradación de Polietileno de la colección del estado de Nayarit

Cepas positivas	PEAD	PEBD	PE
<i>Bacillus cereus</i> (1,2,3,5)			.
<i>Bacillus pumilus</i> (1)		.	
<i>Bacillus thuringiensis</i> (2)			.
<i>Bacillus vietnamensis</i> (2,5)		.	
<i>Bacillus amyloliquefaciens-ssp-plantarum</i> (3)	.		.
<i>Lysinibacillus fusiformis</i> (1)			.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (4)		.	
<i>Pseudomonas chlororaphis</i> (1)			.
<i>Pseudomonas monteilii</i> (1,2)		.	
<i>Serratia marcescens</i> (1,3,5)			
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (1)			

Elaboración propia.

Las especies *Bacillus cereus* y *Serratia marcescens* estuvieron presentes en casi todos los sitios aislados. La mayoría de las cepas obtenidas son degradadoras de PEBD, mientras que la *Bacillus amyloliquefaciens-ssp-plantarum* es la que se ha asociado con la degradación tanto de PEBD como PEAD.

Conclusiones

Se identificaron cinco sitios con alta contaminación con plásticos, de los cuales se obtuvieron 28 muestras de plásticos PEBD y PEAD con evidente estado de degradación. Se obtuvieron 233 cepas aisladas de medio no-selectivos, de los cuales 130 fueron de plásticos PEBD, y 103, de PEAD. Se han identificado 144 cepas por MALDI-TOF, donde el 98 % fueron del dominio bacteria, y 2 %, eukarya. Fueron predominantes las clases Bacilli en un 58 % y gamaproteobacteria en un 41 %. En los cinco sitios muestreados se obtuvieron 43 especies de microorganismos diferentes, de los cuales se encontraron 11 cepas positivas a la degradación de PE, PEBD y PEAD. *Bacillus*

cereus, degradadora de polietileno, fue la especie que estuvo predominante en la mayoría de las zonas en Nayarit, y solo en la laguna de Tepetiltic se ha aislado la bacteria *Bacillus amyloliquefaciens-ssp-plantarum* degradadora de los polímeros PEBD y PEAD. Las cepas aisladas e identificadas son candidatos para subsecuentes evaluaciones enzimáticas y determinaciones de la biodegradabilidad en plásticos.

Referencias

- Azeko, S., Etuk-Udo, G., Odusanya, O., Malatesta, K., Anuku, N. & Soboyejo, W. (2015). Biodegradation of linear low density polyethylene by *Serratia marcescens* subsp. *marcescens* and its cell free extracts. *Waste and Biomass Valorization*, 6(6), 1047-1057.
- Choudhury, I. & Hashmi, M. (2020). *Encyclopedia of renewable and sustainable materials*. Elsevier.
- Danso, D., Chow, J. & Streit, W. R. (2019). Plastics: environmental and biotechnological perspectives on microbial degradation. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(19). <https://doi.org/10.1128/AEM.01095-19>
- PlasticsEurope & EPRO (2019). *Plastics – the Facts. An analysis of European plastics production, demand and waste data*. <https://plasticseurope.org/wp-content/uploads/2021/10/2019-Plastics-the-facts.pdf>
- Gambarini, V., Pantos, O., Kingsbury, J. M., Weaver, L., Handley, K. M. & Lear, G. (2022). PlasticDB: a database of microorganisms and proteins linked to plastic biodegradation. *Database*, 2022. <https://doi.org/10.1093/database/baac008>
- Herrera Hoyos, R. A. & Ospina Mateus, D. A. (2019). *Propuesta de un proceso para el tratamiento biológico del PEBD utilizando bacterias u hongos, a partir de una revisión sistemática*. [Trabajo de investigación para obtener el título de ingeniero]. Universidad El Bosque. https://repositorio.unbosque.edu.co/bitstream/handle/20.500.12495/2091/Ospina_Mateus_Daniela_Alejandra_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Pramila, R. & Ramesh, K. V. (2015). Potential biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by *Acinetobacter baumannii*. *African Journal of Bacteriology Research*, 7(3), 24-28.
- Ru, J., Huo, Y. & Yang, Y. (2020). Microbial degradation and valorization of plastic wastes. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00442>.

- Santo, M., Weitsman, R. & Sivan, A. (2013). The role of the copper-binding enzyme—laccase—in the biodegradation of polyethylene by the actinomycete *Rhodococcus ruber*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 84, 204-210. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.03.001>
- Sarmah, P. & Rout, J. (2018). Efficient biodegradation of low-density polyethylene by cyanobacteria isolated from submerged polyethylene surface in domestic sewage water. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(33), 33508-33520.

Evaluación de la penicilina G acilasa para la biodegradación de antibióticos de uso veterinario: un análisis *in silico*

Christian Berenice ROMERO-OLIVAS·

Luis Alonso LEYVA-SOTO··

Tania DIAZ-VIDAL··

Pablo GORTÁRES-MOROYOQUI····

Raúl Balam MARTÍNEZ PÉREZ····

Resumen

Los antibióticos se emplean con frecuencia en medicina veterinaria para su uso profiláctico y como aditivo en los piensos para prevenir y tratar enfermedades. Sin embargo, la mayoría de los antibióticos que son consumidos se excretan en las aguas residuales como metabolitos secundarios o en su forma original. Por lo tanto, la eliminación de antibióticos de los sistemas acuáticos es de interés ambiental. Existen métodos físicos y químicos para su remediación, pero la generación de subproductos tóxicos ha dirigido los esfuerzos a buscar alternativas en la biodegradación de forma sostenible. Recientemente, las amidas han recibido notable atención por su potencial de aplicación en la biorremediaciόn de antibióticos. La penicilina G acilasa (PGA) es una amidasa con una gran importancia industrial, capaz de hidrolizar el enlace amida de la penicilina G y V para la

• Ingeniero Biotecnólogo, Instituto Tecnológico de Sonora. <https://orcid.org/0000-0003-3372-4489> | christian.romero@potros.itson.edu.mx

·· Doctor en Ciencias en el uso, manejo y preservación de los recursos naturales, Instituto Tecnológico de Sonora-Cátedras Conacyt. <https://orcid.org/0000-0002-8101-7925> | luis.leyva@itson.edu.mx

··· Doctor en Biotecnología Productiva, Universidad de Guadalajara. <https://orcid.org/0000-0001-9110-5147> | taniadv@hotmail.com.

···· Doctor en Ciencias, University of Arizona. <https://orcid.org/0000-0001-5362-2709> | pablo.gortares@itson.edu.mx

····· Doctor en Ciencias con especialidad en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Sonora. <https://orcid.org/0000-0001-5152-7695> | raul.martinez@itson.edu.mx

producción de ácido 6-aminopenicilánico. El objetivo de este trabajo se enfocó en un análisis *in silico* del estudio del acoplamiento e interacciones moleculares de la PGA y antibióticos de uso veterinario encontrados en aguas residuales porcícolas. Los antibióticos evaluados incluyen el clorfenicol, florfenicol, enrofloxacina y oxitetraciclina. El acoplamiento molecular enzima-antibiótico se llevó a cabo en el programa AutoDockVina. Las energías de afinidades del acoplamiento de los complejos PGA y antibióticos fueron termodinámicamente estables (-6.2 kcal/mol) e interactúan mediante enlaces hidrógeno con las estructuras de los antibióticos con distancias menores a los 2.9 Å. Los hallazgos mediante acoplamiento molecular indican que la PGA es una enzima prometedora para la biorremediación de antibióticos.

Palabras clave: acoplamiento molecular, antibióticos, biodegradación, *in silico*, penicilina G acilasa.

Introducción

Los productos de cuidado personal (PCP), como los antibióticos, son fabricados y/o utilizados por un gran número de personas en todo el mundo (Koch et al., 2021). Además de su empleo para el tratamiento de enfermedades humanas, los antibióticos son efectivos agentes que se utilizan ampliamente como herramienta de prevención, control y tratamiento de enfermedades provocadas principalmente por enteropatógenos, el virus de la diarrea epidémica porcina y la influenza A H1N1 dentro del sector pecuario (Cheng... & Wei, 2020; VanderWaal & Deen, 2018). Su ingesta representa el 52 % del consumo global total, considerando las granjas porcícolas como una de las de mayor demanda en todo el mundo (Zhang et al., 2022; Romero-Soto et al., 2022). Los antibióticos que se utilizan dentro de este sector presentaron un valor en el mercado de alrededor de 45 310 000 dólares en 2018, y se expandieron a una tasa de crecimiento anual compuesto del 4.0 % durante el periodo de 2019-2026 (Barreiro & Barredo, 2021). El aumento de esta actividad presenta como consecuencia la generación de aguas residuales (AR) porcícolas que contienen una variedad de contaminantes, incluyendo los antibióticos (Romero-Soto et al., 2022).

La liberación de estos compuestos al ambiente es considerada significativa, debido a que, la mayoría, una vez consumidos no son aprovechados.

dos completamente por la limitada capacidad metabólica del organismo (Sarmah et al., 2006). Por ejemplo, aproximadamente del 5 al 10 % del cloranfenicol (CAP) se excreta sin transformación metabólica; del 45 a 60% del florfenicol (FFA) es excretado en la orina sin cambios; cerca del 20 % de la enrofloxacina (ENR) es eliminada principalmente por orina y heces, y la recuperación urinaria de oxitetraciclina (OXY) 72 horas postratamiento oscila entre el 42 y el 88 % en animales (Mitchell et al., 2015; Zhou et al., 2008; Kolar et al., 2014).

La ocurrencia de los antibióticos en el ambiente puede influir negativamente, debido a que, incluso a niveles de trazas, crea un refugio para la aparición y propagación de genes resistentes a antibióticos y efectos nocivos en la salud de aquellos organismos no objetivo, por ejemplo, las microalgas, que al ser seres unicelulares, son particularmente susceptibles a los antibióticos, lo que en consecuencia provoca una alteración del ambiente acuático (Cheng... & Liu, 2020; Naidu et al., 2016; Kovalakova et al., 2020; Zhang et al., 2022).

La gestión de la calidad de los recursos hídricos para las reservas naturales debe ser prioritaria en cualquier legislación para el mantenimiento y la conservación del ambiente. Su protección se incluye entre los 17 Objetivos de Desarrollo Sostenible de la Organización de las Naciones Unidad (ONU) Agenda 2030. El objetivo número 14 tiene como meta prevenir y reducir significativamente la contaminación marina de todo tipo. Por lo tanto, queda la necesidad de disponer de tratamientos eficientes que permitan la remoción de antibióticos de los sistemas acuáticos (Comisión Económica para América Latina y el Caribe [CEPAL], 2018).

En la actualidad existen métodos físicos y químicos, como la oxidación avanzada, la separación por membranas o el tratamiento de coagulación-flocculación para la remediación de antibióticos en el ambiente, pero la generación de subproductos tóxicos ha dirigido los esfuerzos a buscar alternativas en la biodegradación sostenible (Ghazal et al., 2022). Las enzimas catalizan procesos de degradación biológica de PCP, por lo que se pueden utilizar como tratamiento previo o posterior para aumentar la biodegradabilidad o para degradar compuestos que no se eliminaron o mineralizaron por completo durante el proceso convencional del tratamiento (Langbehn et al., 2021). Sin embargo, hasta la fecha, existe escasez de información sobre la capacidad de las enzimas hidrolíticas en la conversión de antibióticos en cuerpos de agua. Amidosas o amidohidrolasas (EC

3.5.1.4) catalizan la hidrólisis de amidas para liberar ácidos carboxílicos y amoníaco según la siguiente reacción: $\text{RCONH}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{RCOOH} + \text{NH}_3$ (Mehta et al., 2013).

La penicilina G acilasa (PGA) es una enzima perteneciente a la clase amidasas, las cuales han ganado reconocimiento por su capacidad de aplicación en la biodegradación de compuestos recalcitrantes (Wu et al., 2020). Los enfoques computacionales para identificar enzimas capaces de transformar compuestos específicos son necesarios para agilizar el descubrimiento potencial de biorremediación mediada por enzimas disponibles en las bases de datos genómicas. Por lo tanto, se llevó a cabo este estudio para evaluar el acoplamiento molecular y sus interacciones entre los antibióticos de uso veterinario y la enzima PGA por medio de un enfoque de análisis computacional.

Metodología

Análisis *in silico*

Estructura de los antibióticos

Las estructuras de los antibióticos de uso veterinario seleccionados (tabla 1) se obtuvieron de la base de datos DrugBank (<https://go.drugbank.com>). La estructura 2D de los antibióticos en el formato de archivo *.sdf se convirtió en archivos *.pdb utilizando el software ChemOffice v15.0 (Zielesny, 2005). La optimización de su geometría utilizando el Campo de Fuerza Universal (UFF) de los antibióticos modelados tridimensionalmente se llevó a cabo en Avogadro (v1.2.0).

Tabla 1. Estructuras de los antibióticos: nombre, clase e identificación

Antibiótico	Clase	ID DrugBank	Estructura química
CAP	Anfenicol	DB00446	
FFA	Anfenicol	DB11413	
ENR	Fluoroquinolona	DB11404	
OXY	Tetraciclina	DB00595	

Elaboración propia.

Estructura tridimensional de la penicilina G acilasa

La estructura cristalina de la enzima penicilina G acilasa (PGA; PDB ID: 1AI6) fue obtenida de la base de datos Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). Las proteínas se limpian eliminando los complejos químicos no relacionados, utilizando el servidor CHARMM-GUI (Jo et al., 2014).

Estudios de acoplamiento molecular

El acoplamiento molecular se realizó sistemáticamente utilizando distintas herramientas computacionales. Se utilizó AutoDockTools v1.5.6 para

la preparación de las moléculas del ligando y receptor, para favorecer las interacciones electrostáticas a través de los enlaces de hidrógeno (H) (Bikadi & Hazai, 2009). A los ligandos se les añadieron cargas de Gasteiger, y se fusionaron los hidrógenos no polares. La PGA fue protonada con la adición de hidrógenos polares, y se le asignaron cargas de Kollman. El mecanismo de unión de los complejos proteína-ligando se realizó en AutoDockVina v2.1.1 (Trott & Olson, 2010). Las dimensiones x, y y z de la caja de rejilla utilizada fueron 22, 22 y 22, respectivamente, con las correspondientes coordenadas centrales de 13.12, 41.73 y 33.7 dentro de un espacio de 1.0 Å. Los análisis se llevaron a cabo con un enfoque de acoplamiento flexible y una exhaustividad de 32.

Visualización e interacciones moleculares

Los resultados de las mejores poses de acoplamiento entre la enzima y los antibióticos están basados en las energías de afinidad termodinámicamente favorables y la puntuación de las geometrías con respecto al enlace tipo h menores a 3.5 Å. Los complejos se visualizaron con el software Discovery Studio v21.1.0 (BIOVIA, 2021). Se estudió la interacción entre enzima y antibióticos para analizar los tipos de enlaces hidrógeno y Pi.

Superficie de potencial electrostático

Para evaluar el potencial electrostático superficial de la PGA se utilizó el servidor PDB2PQR v3.5.1 (Jurrus et al., 2018). Los parámetros de APBS (por sus siglas en inglés, Adaptative Poisson-Boltzmann Solver) y las unidades de potencial electrostático se establecieron en condiciones neutras (pH 7.0). El campo de fuerza aplicado fue PARSE. En APBS configuraciones las especies de iones móviles presentes en el sistema (opcional) se realizaron con una carga de +1 (ion1), -1 (ion2) (EC), 0.01 M y 2.0 radio (Å). La visualización del potencial electrostático se efectuó en UCSF Chimera v1.16 (Pettersen et al., 2004).

Resultados y discusión

Análisis de interacciones moleculares entre PGA y antibióticos

Los experimentos de acoplamiento molecular predijeron las mejores conformaciones en términos de energía libre de Gibbs (kcal/mol), valores negativos predicen complejos receptor-ligando estables (Chen, 2015). Además, se realizó un cribado virtual basado en la estructura del antibiótico y el acoplamiento, centrándose en las interacciones entre en el aminoácido catalítico de la PGA (Ser1) y el sitio de unión con el antibiótico. Los resultados se resumen en la tabla 2. Las interacciones de enlace H y Pi son esenciales para el reconocimiento molecular y contribuyen en términos de entalpía a la energía libre de unión de los complejos proteína-ligando (Bauer & Mackley, 2019). Las predicciones de las interacciones moleculares de los complejos PGA-CAP y PGA-FFA mostraron dos enlaces H con Ser1 y Asn241, con energías de afinidades de -6.2 y -6.6 kcal/mol, respectivamente (figura 1A, 1B). La PGA con la ENR (figura 1C) manifestó dos interacciones de tipo H con los residuos Ser1 y Gln23 y una energía de interacción de -6.5 kcal/mol.

Al examinar las afinidades de la PGA por los antibióticos, se encontró que la Ser1 mostró uniones de acoplamiento termodinámicamente estables. La OXY exhibió una energía de unión de -7.8 kcal/mol con el receptor, estableciendo la energía de unión más alta entre todos los antibióticos seleccionados, a través de un enlace puente de hidrógeno (H) a una distancia de 2.6 Å (figura 1D).

Tabla 2. Predicción de la afinidad de unión e interacciones de acoplamiento detalladas de la PGA con los antibióticos

Ligando	Energía de afinidad (kcal/mol)	Aminoácidos que interactúan en la PGA	
		Enlace hidrógeno (H)	Distancia (Enlace-H, Å)
CAP	-6.2	Ser1 = O	2.9
FFA	-6.6	Ser1 = O	2.6
ENR	-6.5	Ser1 = O	2.5
OXY	-7.8	Ser1 = O	2.6

Elaboración propia.

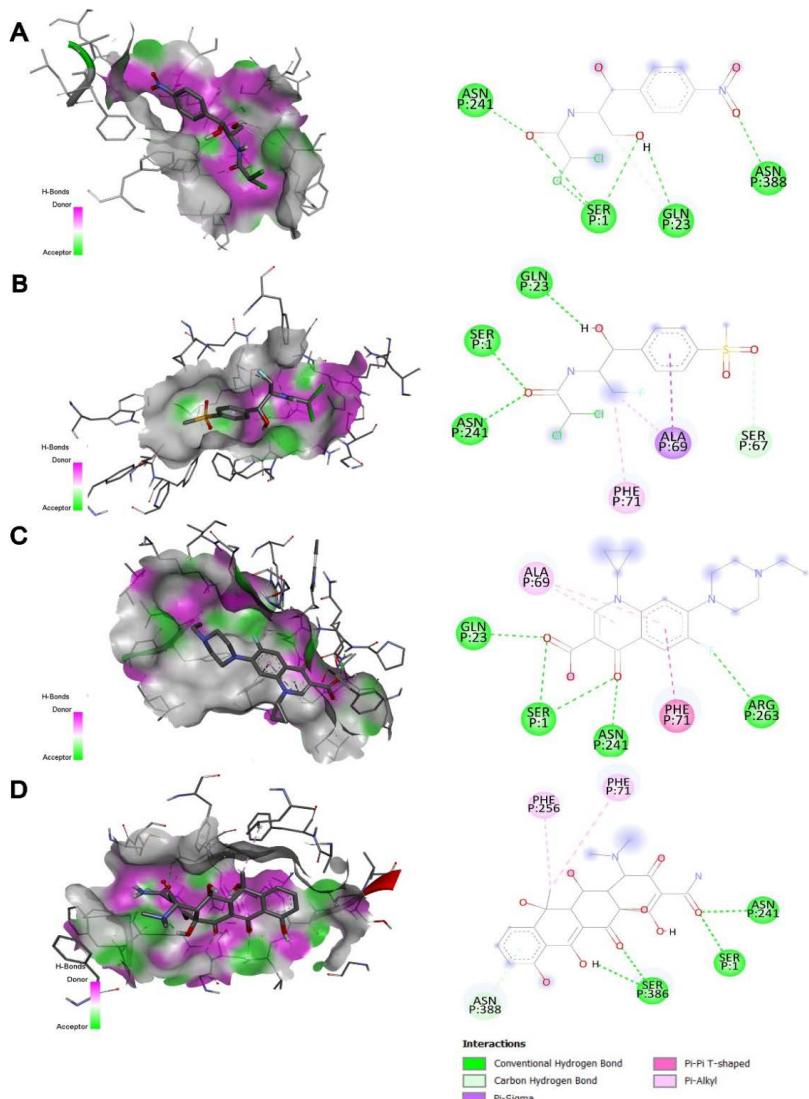
Cuando se analizaron los acoplamientos, se elucidaron dos sitios destacados de interacción enzima-antibiótico con el oxígeno del grupo amida de los antibióticos de la clase anfenicos y la oxy y con el oxígeno del grupo acetilo de la enr. Donde se predice el sitio de enlace para llevar a cabo la hidrólisis enzimática.

La hidrólisis se basa en el hecho de que muchos antibióticos tienen enlaces químicos que son susceptibles a ruptura. Cuando una enzima hidroliza estos enlaces, la actividad biológica de los antibióticos desaparece (Ollila, 2020). Tao et al (2012) identificaron una esterasa con actividad amidasa capaz de hidrolizar tanto el CAP como el FFA, su mecanismo de inactivación se basa en la incisión hidrolítica en el enlace amida que está presente en las estructuras de ambos anfenicos.

En el caso de la oxy, se ha reportado que una importante vía de degradación en aguas dulces y salobres es la hidrólisis química; no obstante, este tipo de reacción es afectada por el pH y la temperatura de la solución (Leal et al., 2019; Schmidt et al., 2007). Algunos estudios en literatura reportan la biorremediación de oxy y enr por microorganismos y algas (Ahumada-Rudolph et al., 2016; Nnenna et al., 2011; Koch et al., 2021). Sin embargo, el mecanismo de reacción que tienen las enzimas implicadas en su degradación no ha sido clarificado, y al tratarse de una enzima, factores como las concentraciones elevadas de sustrato podrán inhibir la acción catalítica de la enzima. En consecuencia, las aguas residuales pueden requerir diluciones para viabilidad del tratamiento (Strong & Claus, 2011).

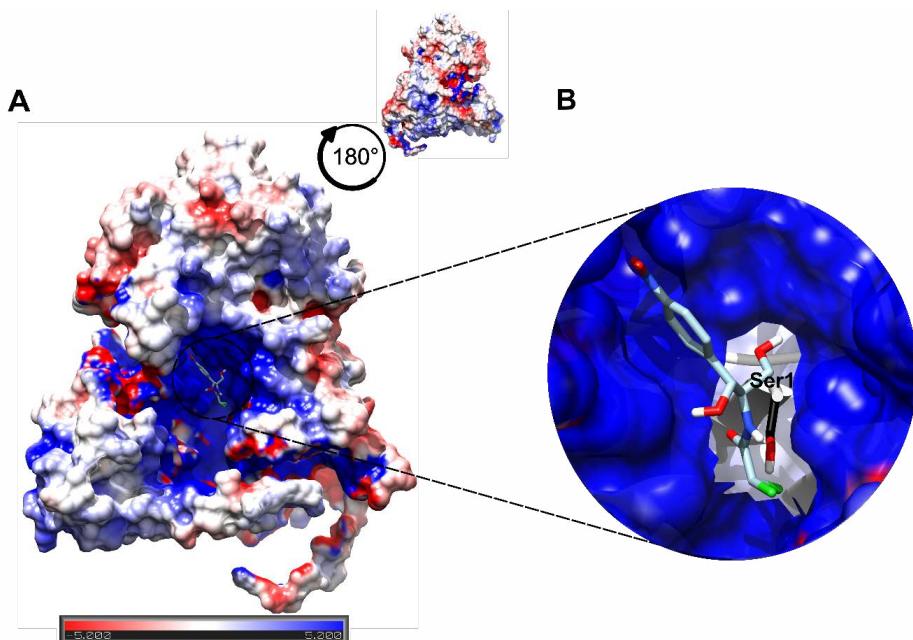
Los complejos de PGA con cloranfenicol (A) interactúa con enlaces convencionales tipo H con los aminoácidos ser1, gln23, Asn241 y Asn388; florfenicol (B) interactúa con enlaces convencionales tipo H con ser1, gln23, Asn241, enlaces Pi-Sigma con Ala69, enlace Pi-Alkyl con phe71 y enlace carbono-hidrógeno con ser67; enrofloxacina (C) interactúa con enlaces convencionales con ser1, gln23, Asn241, Arg263, enlace Pi-Pi T-shaped con phe71, enlace Pi-Alkyl con Ala69; oxitetraciclina (D) interactúa con enlaces convencionales con ser1, Asn241, ser386, enlace Pi-Alkyl con phe71, phe256 y enlace carbono-hidrógeno con Asn388. En la superficie molecular de la PGA las formaciones de enlaces tipo H se representan en color magenta para los receptores donantes y en color verde para los receptores aceptores.

Figura 1. Análisis de los acoplamientos moleculares visualizado por Discovery Studio Visualizer tanto en poses 2d como 3d en la estructura proteica de PGA (PDB ID: 1A16) con los antibióticos



Elaboración propia.

Figura 2. Mapa de potencial de superficie electrostático de la (A) PGA en (B) Interacción del enlace tipo H del complejo ser1 (stick negro) con el antibiótico cloranfenicol



Elaboración propia.

Las regiones positivas se muestran en azul y las regiones negativas en rojo, en una escala de colores que va de -5 a +5 kJ/e.

Potencial electrostático molecular

En la superficie de la enzima tiene lugar el reconocimiento molecular entre la enzima y las moléculas. El mapa de potencial electrostático representa la fuerza repulsiva experimentada por la carga de partículas de un protón en varias partes de la superficie molecular (Naher et al., 2022). La figura 2A muestra una distribución de carga de potencial electrostático mapeada en 3D, en la que el potencial electrostático negativo (color rojo) representa la atracción del protón por la región de alta concentración de electrones en la molécula, mientras que el potencial electrostático positivo (color azul) corresponde a la repulsión del protón por los núcleos atómicos.

cos. En el sitio superficial de reconocimiento enzima-sustrato de la PGA en complejo con la CAP se tiene una región con un potencial exclusivamente positivo; esta región es un objetivo potencial para el ataque nucleofílico llevado a cabo por el aminoácido ser1 (figura 2B), ya que es una región que posee menos electrones (Murray & Politzer, 2011).

Conclusiones

En este estudio se evaluaron los acoplamientos moleculares de la PGA y los antibióticos de uso veterinario cloranfenicol, florfenicol, enrofloxacina y oxitetraciclina. Esta predicción propone las formaciones de complejos estables enzima-antibiótico con energías de afinidad favorables e interacciones de enlace tipo H en partes clave de la estructura del antibiótico. Por lo que, la PGA es una enzima prometedora para la biodegradación de antibióticos y de aquellos contaminantes que contengan en su estructura un enlace amida, además de su potencial en la síntesis de nuevos fármacos.

Agradecimientos

Christian Berenice Romero-Olivas agradece al Conacyt por la beca otorgada (1149776) y al PROYECTO PROFAPI-ITSON (DFP300320165). Tania Diaz Vidal agradece a la beca posdoctoral SEP-SES (23-007-c).

Referencias

- Ahumada-Rudolph, R., Novoa, V., Sáez, K., Martínez, M., Rudolph, A., Torres-Diaz, C. & Becerra, J. (2016). Los hongos marinos aislados de los sedimentos de los fiordos chilenos pueden degradar la oxitetraciclina. *Monitoreo y Evaluación Ambiental*, 188(8), 1-10. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5475-0>.
- Barreiro, C. & Barredo, J. L. (2021). Worldwide clinical demand for antibiotics: is it a real countdown? En C. Barreiro & J. L. Barredo, *Antimicrobial therapies: methods and protocols* (Vol. 2296) (pp. 3-15). Humana Press.
- Bauer, M. & Mackey, M. (2019). Electrostatic complementarity as a fast and effective tool to optimize binding and selectivity of protein–ligand complexes. *Journal of Medicinal Chemistry*, 62(6), 3036-3050. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.8b01925>.

- Bikadi, Z. & Hazai, E. (2009). Application of the pm6 semi-empirical method to modeling proteins enhances docking accuracy of AutoDock. *Journal of Cheminformatics*, 1, 1-16.
- BIOVIA, Daasault Système. (2021). *Discovery studio*. San Diego: Dassault Système.
- Comisión Económica para América Latina y el Caribe (2018). *The 2030 agenda and the sustainable development goals: an opportunity for Latin America and the Caribbean*. Organización de las Naciones Unidas. <https://repositorio.cepal.org/handle/11362/40156>
- Chen, Y. C. (2015). Beware of docking! *Trends in Pharmacological Sciences*, 36(2), 78-95.
- Cheng, D., Ngo, H., Guo, W., Chang, S., Nguyen, D., Liu, Y. & Wei, D. (2020). A critical review on antibiotics and hormones in swine wastewater: water pollution problems and control approaches. *Journal of Hazardous Materials*, 387. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121682>
- Cheng, D., Ngo, H., Guo, W., Chang, S., Nguyen, D. & Liu, Y. (2020). Contribution of antibiotics to the fate of antibiotic resistance genes in anaerobic treatment processes of swine wastewater: a review. *Bioresource Technology*, 299. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122654>.
- Ghazal, H., Koumaki, E., Hoslett, J., Malamis, S., Katsou, E., Barcelo, D. & Jouhara, H. (2022). Insights into current physical, chemical and hybrid technologies used for the treatment of wastewater contaminated with pharmaceuticals. *Journal of Cleaner Production*, 361. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.132079>.
- Jo, S., Cheng, X., Islam, S. M., Huang, L., Rui, H., Zhu, A., Lee, H. S., Qi, Y., Han, W., Vanommeslaeghe, K., MacKerell, A. D., Roux, B. & Im, W. (2014). CHARMM-GUI PDB manipulator for advanced modeling and simulations of proteins containing nonstandard residues. En T. Karabencheva-Christova (Ed.), *Advances in protein chemistry and structural biology* (Vol. 96) (pp. 235-265). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/bs.apcsb.2014.06.002>.
- Jurrus, E., Engel, D., Star, K., Monson, K., Brandi, J., Felberg, L., Brookes, D., Wilson, L., Chen, J., Liles, K., Chun, M., Li, P., Gohara, D., Dolinsky, T., Konecny, R., Koes, D., Nielsen, J., Head-Gordon, T., Geng, W.,... Baker, N. (2018) Improvements to the APBS biomolecular solvation software suite. *Protein Science*, 27(1), 112-128. <https://doi.org/10.1002/pro.3280>.
- Koch, N., Islam, N., Sonowal, S., Prasad, R. & Sarma, H. (2021). Environmental antibiotics and resistance genes as emerging contaminants: methods of

- detection and bioremediation. *Current Research in Microbial Sciences*, 2. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100027>.
- Kolar, B., Arnuš, L., Jeretin, B., Gutmaher, A., Drobne, D. & Durjava, M. (2014). The toxic effect of oxytetracycline and trimethoprim in the aquatic environment. *Chemosphere*, 115, 75-80. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.02.049>.
- Kovalakova, P., Cizmas, L., McDonald, T. J., Marsalek, B., Feng, M., & Sharma, V. K (2020). Occurrence and toxicity of antibiotics in the aquatic environment: A review. *Chemosphere*, 251. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126351>.
- Langbehn, R. K., Michels, C., & Soares, H. M. (2021). Antibiotics in wastewater: from its occurrence to the biological removal by environmentally conscious technologies. *Environmental Pollution*, 275. <https://doi.org/10.1016/j.enpol.2021.116603>.
- Leal, J. F., Santos, E. B., & Esteves, V. I. (2019). Oxytetracycline in intensive aquaculture: water quality during and after its administration, environmental fate, toxicity and bacterial resistance. *Reviews in Aquaculture*, 11(4), 1176-1194.
- Mitchell, S. M., Ullman, J. L., Teel, A. L., & Watts, R. J. (2015). Hydrolysis of amphenicol and macrolide antibiotics: chloramphenicol, florfenicol, spiramycin, and tylosin. *Chemosphere*, 134, 504-511. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.050>.
- Murray, J. S. & Politzer, P. (2011). The electrostatic potential: an overview. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 1(2), 153-163. <https://doi.org/10.1002/wcms.19>.
- Mehta, P. K., Bhatia, S. K., Bhatia, R. K. & Bhalla, T. C. (2013). Purification and characterization of a novel thermo-active amidase from *Geobacillus subterraneus* RL-2a. *Extremophiles*, 17(4), 637-648. <https://doi.org/10.1007/s00792-013-0547-3>.
- Naher, K., Moniruzzaman, M., Islam, S., Hasan, A., Paul, G., Jabin, T. & Uddin, M. (2022). Evaluation of biological activity and in silico molecular docking studies of *Acanthus ilicifolius* leaf extract against four multidrug-resistant bacteria. *Informatics in Medicine Unlocked*, 33. <https://doi.org/10.1016/j.imu.2022.101092>.
- Naidu, R., Espana, V. A. A., Liu, Y. J., & Jit, J. (2016). Emerging contaminants in the environment: Risk-based analysis for better management. *Chemosphere*, 154, 350-357. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.068>.

- Nnenna, FP, Lekiah, P. & Obemeata, O. (2011). Degradation of antibiotics by bacteria and fungi from the aquatic environment. *Journal of Toxicology and Environmental*, 3(10), 275-285.
- Ollila, K. (2020). *The use of veterinary antibiotics in the Nordic countries and its impact on antibiotic resistance* [tesis de maestría]. University of Eastern Finland. https://erepo.uef.fi/bitstream/handle/123456789/22271/urn_nbn_fi_uef-20200531.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Pettersen, E., Goddard, T., Huang, C., Couch, G., Greenblatt, D., Meng, E. & Ferrin, T. (2004). UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605-1612.
- Romero-Soto, I., García-Gómez, C., Leyva-Soto, L., Nápoles-Armenta, J., Concha-Guzmán, M., Díaz-Tenorio, L., Ulloa-Mercado, R., Drogui, P., Buelna, G., Rentería-Mexia, A. M. & Gortáres-Moroyoqui, P. (2022). Efficiency of an up-flow Anaerobic Sludge Blanket reactor coupled with an electrochemical system to remove chloramphenicol in swine wastewater. *Water Science and Technology*, 85(2), 591-604. <https://doi.org/10.2166/wst.2021.632>.
- Sarmah, A. K., Meyer, M. T. & Boxall, A. B. A. (2006). A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAS) in the environment. *Chemosphere*, 65(5), 725-759. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.03.026>
- Schmidt, L. J., Gaikowski, M. P., Gingerich, W. H., Dawson, V. K. & Schreier, T. M. (2007). *An environmental assessment of the proposed use of oxytetraacycline-medicated feed in freshwater aquaculture*. US Geological Survey, Biological Resources Division, Upper Midwest Environmental Sciences Center. <https://animaldrugsatfda.fda.gov/adafda/app/search/public/document/downloadEA/156>
- Strong, P. J. & Claus, H. (2011). Laccase: a review of its past and its future in bioremediation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 41(4), 373-434.
- Tao, W., Lee, M. H., Wu, J., Kim, N. H., Kim, J. C., Chung, E. & Lee, S. W. (2012). Inactivation of Chloramphenicol and Florfenicol by a Novel Chloramphenicol Hydrolase. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(17), 6295-6301. <https://doi.org/10.1128/AEM.01154-12>
- Trott, O. & Olson, A. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multi-threading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>.

- VanderWaal, K. & Deen, J. (2018). Global trends in infectious diseases of swine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(45), 11495-11500.
- Wu, Z., Liu, C., Zhang, Z., Zheng, R. & Zheng, Y. (2020). Amidase as a versatile tool in amide-bond cleavage: From molecular features to biotechnological applications. *Biotechnology Advances*, 43. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2020.107574>.
- Zhang, R., Yang, S., An, Y., Wang, Y., Lei, Y. & Song, L. (2022). Antibiotics and antibiotic resistance genes in landfills: a review. *Science of the Total Environment*, 806, parte 2. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150647>.
- Zhou, X., Chen, C., Yue, L., Sun, Y., Ding, H., & Liu, Y. (2008). Excretion of enrofloxacin in pigs and its effect on ecological environment. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26(3), 272-277. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2008.04.004>.
- Zielesny, A. (2005). Chemistry Software Package ChemOffice Ultra 2005. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 45(5), 1474-1477. <https://doi.org/10.1021/ci050273j>.

Fabricación de materiales avanzados con residuos agroindustriales para la desintoxicación de agua contaminada

Naveen Kumar REDDY BOGIREDDY*

Resumen

Las nanopartículas de metales nobles han ganado más atención debido a su importancia en varios campos de investigación, como la investigación médica y ambiental. Esta revisión se centra en las percepciones básicas sobre la síntesis ecológica de nanopartículas metálicas y su reducción de contaminantes orgánicos basadas en catalizadores de apoyo. Se discuten los mecanismos para la formación de nanopartículas y la reducción catalítica de contaminantes orgánicos. También, los parámetros en los cálculos de eficiencia catalítica para estudiarlos más a fondo.

Palabras clave: nanopartículas metálicas, purificación agua, síntesis sostenible, metales nobles.

Introducción

La contaminación del agua y del medio ambiente provocada por un mal manejo de aguas residuales provenientes de la industria agrícola, farmacéutica y minera se ha convertido en una preocupación nacional muy importante debido a los efectos negativos a la salud, tales como diversas enfermedades gastrointestinales, problemas neuronales e inmunológicas, afecciones al sistema reproductivo, deformación tisular, arteriosclerosis y enfermedades cardiovasculares, renales y carcinógeno para los seres humanos (Hou et al., 2020; Kazemifard et al., 2020; Şenol & Onganer, 2022; Bogireddy, Sahare et al., 2020). De acuerdo con la Agencia de Protección

* Laboratorios de Ciencia de Materiales, Instituto de Ciencias Físicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Ambiental de los Estados Unidos Mexicanos de Agencia de Seguridad, Energía y Ambiente (ASEA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), los contaminantes de aguas residuales se han clasificado como prioritarios; es importante la eliminación de toxinas del agua para no rebasar el límite permitido: menos de 60 microgramo por litro (Zhang et al., 2020; Tu et al., 2020). En esta investigación se propone el uso de nanomateriales metálicos sustentables, ecológicos y económicos que actúen como nanofiltros capaces de eliminar contaminantes tóxicos en el agua para reducir los riesgos en la salud.

La purificación del agua proveniente de la agricultura, industria y minería permite una mejor calidad de vida, ya que disminuye la propagación de contaminantes tóxicos —metales pesados, pesticidas y colorantes— en ríos y mares, y evita enfermedades humanas causadas por la ingesta de alimentos y agua contaminada. De lo contrario, se genera un exceso de minerales y nutrientes en el agua —como fósforo y nitrógeno— que conduce a un mayor crecimiento de plantas acuáticas y algas que pueden ser bastante tóxicas, causar envenenamiento y que hacen que cualquier pez o animal que se alimente de ella tenga probabilidad de morir (Torres et al., 2022; Kaur et al., 2022). Los animales marinos, como peces, estrellas de mar, arrecifes de coral, caballitos de mar, etcétera, serán difíciles de criar y será difícil que respiren debido a la contaminación del océano. No solo la chatarra, la contaminación del océano también ocurre debido a desechos de barcos como el petróleo o la gasolina. El consumo de estos cultivos por animales ha dado lugar a graves problemas de salud (Bogireddy et al., 2020).

En los últimos años, un tema que ha generado gran preocupación por los efectos adversos, principalmente a la salud, es la contaminación de las aguas —superficiales y subterráneas—, incluyendo las marinas. La principal causa de este evento se debe a las altas cantidades de contaminantes tóxicos y refractarios, principalmente 4-nitrofenol (4-NP) (Bogireddy, Ghafour et al., 2022), que es ampliamente utilizado en las industrias farmacéutica y textil (Bogireddy, Silva et al., 2022; Bogireddy, Ghafour et al., 2022), en la producción de herbicidas e insecticidas, colorantes sintéticos, pinturas, y se utilizan como inhibidores de corrosión, indicadores de pH, entre otras aplicaciones (Bogireddy, Pal et al., 2022; Bogireddy, Mejia et al., 2021). Por lo tanto, la reducción de 4-NP a 4-aminofenol (4-AP) se ha convertido en un tema crucial, ya que el 4-AP es un compuesto con un me-

nor grado de toxicidad (Bogireddy et al., 2017). Entre las diversas reacciones de reducción de 4-NP, la reacción con boro hidruro de sodio (NaBH_4) como agente reductor (fuente de H_2) junto con catalizadores metálicos, tales como Pd, Ag, Pt, Cu, Au y sus ensamblajes en los dendrímeros, en la matriz polimérica, los microgeles, el metal, el soporte recubierto de sílice inmovilizado, el óxido de grafeno, entre otros, ganaron más atención debido a su proceso de reducción sencillo y ecológico. Varios catalizadores para técnicas de fabricación, métodos químicos y ecológicos utilizados fabricaron nanomateriales, como Au, Ag, Pt, Pd y Cu ampliamente en la reacción de reducción de 4-NP en medios acuosos y semisólidos (Anna et al., 2020; Anna et al., 2022; Bogireddy et al., 2015; Bogireddy et al., 2016).

Metodología

Fabricación de nanoestructuras metálicas

Preparación del extracto de polvo de residuos orgánicos

Las cantidades del polvo de residuo orgánica secados al sol, obtenidos de una solución de polvo cantidad entre 0.1 a 10 g/L, se tomaron en un vaso de precipitados con agua destilada y se mantuvieron a 85 ± 10 °C durante 30 a 60 minutos (min). Además, el extracto de residuo orgánica se enfrió a temperatura ambiente y se centrifugó 4 000 revoluciones por minuto (rpm) por 30 minutos a temperatura ambiente y se filtró usando un papel de filtro de 10 micras de poro (Mejía et al., 2022).

Preparación de nanoestructuras metálicas

Aproximadamente 5 a 100 mL de solución de extracto de residuos orgánicos recién preparada se agregaron a una solución de metálicos bajo agitación con barra de agitación magnética a 150 rpm a 70 ± 10 °C. Entre 25 a 45 minutos —depende de tipo de nanopartículas—, el color visual de la solución cambió de amarillo pálido a marrón oscuro, en el caso de nanopartículas de oro, lo que es indicativo de la formación de nanopartículas. Por último, las nanopartículas se separaron por centrifugación a 5 000 a 8 000 rpm durante 20 a 60 min a temperatura ambiente (Bogireddy et al., 2022).

Caracterización de las nanopartículas fabricadas

Las nanopartículas se han analizado utilizando varias técnicas de caracterización convencionales para determinar las propiedades y el tipo de metal. Entre las caracterizaciones esenciales utilizadas tradicionalmente (Torres et al., 2022; Senthil Kumar et al., 2019), el espectro de absorción se midió mediante espectroscopía de absorbancia UV-visible para identificar bandas de transición electrónica con resonancia de plasmón superficial (SPR). La primera aproximación para las mediciones del tamaño de las partículas se logró utilizando analizadores de tamaño de partículas por la dispersión dinámica de la luz, donde el movimiento browniano de las nanopartículas dispersa la luz láser y se interpreta el análisis de las fluctuaciones (Ramos et al., 2017). La carga superficial de los puntos de carbono se ha obtenido a partir de estudios de potencial zeta. La cristalinidad y la naturaleza grafítica de los puntos de carbono se han identificado utilizando un difractómetro de rayos X (XRD). Se han realizado experimentos de espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FT-IR) para analizar la composición química y estructural de las nanopartículas metálicas. El tamaño, la forma y la cristalinidad de los puntos de carbono se han obtenido a partir del microscopio electrónico de transmisión de alta resolución y de imágenes de difracción (electrónica) de área seleccionada (SAED) (Tang et al., 2017; Mast et al., 2020).

Resultados y discusión

Propiedades ópticas, morfológicas, estructural y químicas de las nanopartículas metálicas

Las condiciones de reacción, tales como el tipo de materia prima —microorganismos, material vegetal, etcétera—, la temperatura, presión, pH, tiempo de reacción, agente reductor y concentraciones de iones metálicos, interfieren directamente en sus características químicas, físicas y ópticas —tamaño de partícula, forma y textura— de las nanopartículas. El pH juega un papel esencial en la síntesis de NPs; afecta el tamaño, la forma y la velocidad de reacción. Un aumento en el pH mejora el centro de nucleación y aumenta el proceso de síntesis. Un estudio de Gericke & Pinches (2006), en el que utilizaron diferentes tipos de microorganismos —*Pseu-*

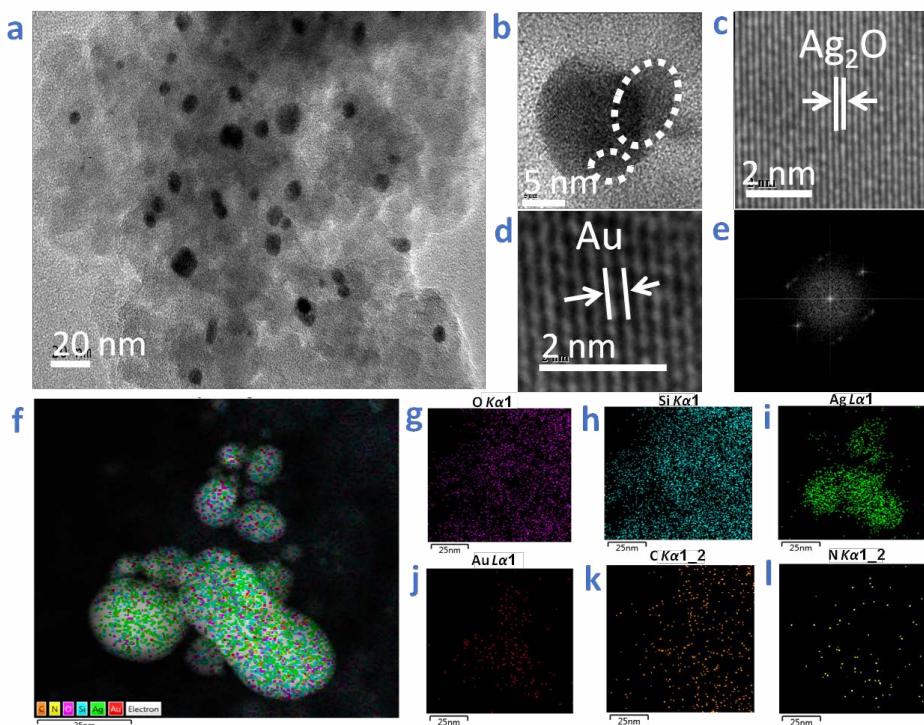
donomas stutzeri, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida*, entre otros— y concentraciones de pH —3, 5, 7 y 9— obtuvo AUNPS con diferentes morfologías —triángulos, hexágonos, esferas y varillas—. Con esto demostró que la concentración de pH y el tipo de materia prima interfieren en la estructura del NPs. Asimismo, nuestro grupo (Bogireddy et al., 2019) también demostró que el pH de la solución de extracto de semilla de *Persea americana* cambia la forma y el tamaño de las AUNPS, con lo que se obtienen partículas esféricas y de mayor tamaño a pH 3, mientras que a pH 10 se obtienen AUNPS casi esféricas, con tamaños más pequeños.

Por otro lado, la temperatura también influye en la morfología y velocidad de reacción en la síntesis de NPs porque afecta la nucleación. En un estudio de Sheny et al. (2011), informaron que al sintetizar partículas (Au y Ag) a temperaturas elevadas (100 °C), se requería una menor concentración de extracto —extraído de *Anacardium occidentale*— para aumentar la tasa de bioreducción y el tamaño de las NP. Cuando las partículas de Au y Ag se sometieron a 27 °C, se requirió una mayor concentración de extracto, lo que disminuyó la velocidad de reacción de horas a minutos (figura 1).

Como se mencionó anteriormente, el tiempo de reacción y la presión también interfieren con la tasa de amalgamación y el tamaño de las NP, como se muestra en un estudio de Rezayat et al. (2014): al sintetizar PdNP utilizando cristales de celulosa vegetal, a medida que aumentaba la presión —hasta 3 500 psi (libra por pulgada cuadrada)—, el diámetro de las NP disminuía y la reducción se volvía desfavorable debido a los coproductos gaseosos, tales como dióxido de carbono. También se traducía en una menor cantidad de emisión de metano.

Asimismo, dichos autores analizaron el efecto del tiempo de reacción y demostraron que interfiere en el diámetro de las NPs: llegó a 13 nanómetros (nm) en un tiempo de 14 horas (h). A medida que aumentaba el tiempo —hasta 17 h—, el diámetro de las NP disminuía a 10 nm. Sin embargo, Kahrilas et al. (2014), el informe no muestra ningún efecto significativo de la presión en la síntesis de NP.

Figura 1. Mapeo hr-tem, fft y eds de cg-ag₂o/au-sio₂



Adaptado de Bogireddy, Ghafour et al., 2022.

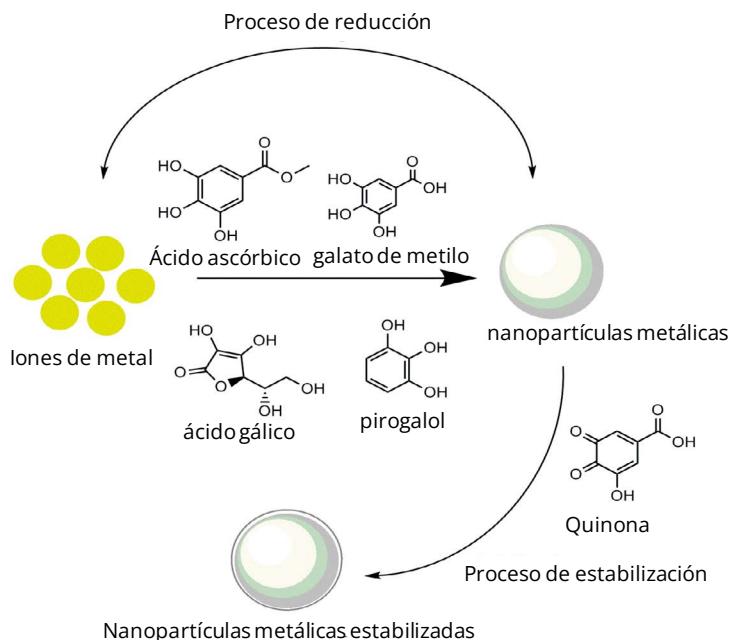
(a) TEM (barras de escala_20 nm), (b-d) HR-TEM (barras de escala_2-5 nm), (e) FFT, (f) el mapeo EDS de CG-AG2O/AU-sio₂ (barras de escala_25 nm) que revela la presencia de (g) oxígeno, (h) silicio, (i) plata, (j) oro, (k) carbono y (l) nitrógeno.

Las nanopartículas fabricadas en verde se utilizan para diversas aplicaciones, como agentes antimicrobianos (por ejemplo, AgNP), obtención de imágenes celulares en la detección del cáncer (p. ej. AUNP), generación de energía alternativa (AUNP), remediación de aguas residuales aceitosas, como sensores (p. ej., AgNP) y, además, como catalizadores sostenibles para la remediación ambiental (p. ej., AUNP, AgNP, etc.) (Chang et al., 2021; Liu, J. et al., 2018). La remediación ambiental se ha vuelto de crucial importancia debido a los impactos negativos causados por la contaminación, como se mencionó anteriormente. El agua es uno de los recursos con ma-

yor impacto por los contaminantes que liberan la industria y la minería (Taner & Özdemir, 2012). Por lo tanto, las NP obtenidas por síntesis verde son una alternativa para la reducción de compuestos orgánicos tóxicos (como se mencionó en la introducción).

Possible comprensión mecánica para la formación de nanopartículas metálicas

Figura 2. Possible entendimiento sobre la formación de nanopartículas metálicas estables usando síntesis verde



Elaboración propia.

La posible comprensión de la formación de nanopartículas metálicas sintetizadas verdes aún está en debate. La comprensión del mecanismo detrás de la formación de nanopartículas metálicas varía según el agente reductor y estabilizador (Bogireddy et al. 2015). En general, la fabricación de NP de metal sigue un procedimiento común en el que los iones metá-

licos se aíslan en la solución de reacción, que contiene un bioprecursor, seguido de la reducción de iones metálicos a sus respectivas NP.

Varios estudios informaron que los precursores verdes actúan como agentes multifuncionales con capacidades tanto reductoras como protectoras, pero se han realizado esfuerzos limitados para explorar su química. A algunos de los grupos se les propuso una posible comprensión basada en el resultado de los resultados de HPLC y FTIR obtenidos (figura 2). Los estudios de HPLC descubrieron la existencia de metabolitos secundarios como ácido gálico, ácido ascórbico, pirogalol y galato de metilo, respectivamente. Todos estos metabolitos secundarios contienen ligandos complejos —es decir, grupos hidroxilo ($-OH$)—, que pueden reducir los iones metálicos a nanopartículas metálicas. Mediante el estudio FTIR también se confirmó la existencia de la participación de grupos $-OH$ en el proceso de reducción de iones metálicos. Además, identificó la participación de compuestos fenólicos en la reducción de iones metálicos a partir de resultados de HPLC.

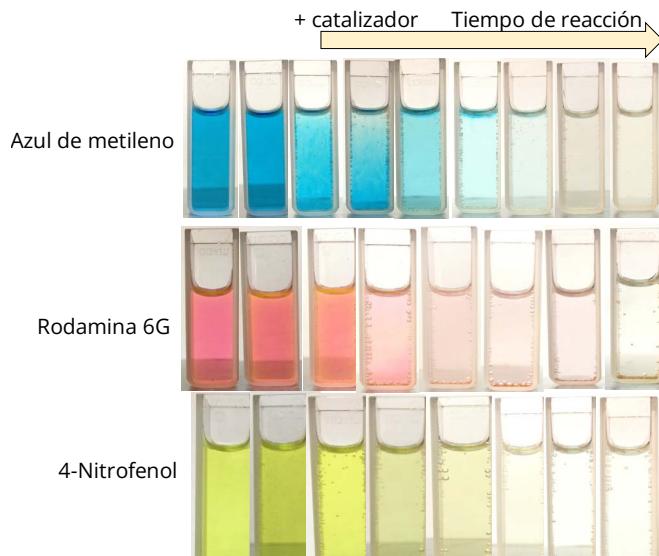
Brevemente, durante el período de reducción de iones metálicos, los compuestos fenólicos pasan por un proceso de oxidación de dos electrones que da como resultado formas de quinona —a partir del ácido gálico—, que juegan un papel en el recubrimiento con la ayuda de carboxílicos cargados negativamente ($-C=O$) grupos y superficie de nanopartículas cargadas positivamente a través de la interacción electrostática. Por último, los informes sugieren que todos los compuestos químicos identificados —ácido gálico, ácido ascórbico, pirogalol y galato de metilo— han participado en la reducción de iones metálicos a nanopartículas metálicas, y la forma oxidada del ácido gálico solo participa activamente en la estabilización del proceso de las nanopartículas.

Experimentos catalíticos

Los experimentos de reducción de los contaminantes tóxicos se llevaron a cabo con cierta cantidad entre 0.1 a 10 miligramos (mg) de catalizador; se mezcló con cierta concentración de 0.1 a 10 milimolar (mM) de contaminante acuoso para formar una solución mixta. Posteriormente, se añadieron 10 a 500 veces —concentración del contaminante que vamos a utilizar— de una solución de NABH₄ recién preparada a la mezcla anterior de muestras de agua. El proceso de reducción del contaminante se observa utilizando técnicas de espectroscopias ópticas, tales como UV-visible

absorbancia y fotoluminiscencia. Todos los experimentos se realizan en condiciones ambientales: temperatura ambiente y bajo lámpara de cuarto blanco (figura 3), y se realizan por múltiples veces.

Figura 3. Fotografías digitales dependientes del tiempo de la reducción catalítica de 4-nitrofenol, Rodamina 6G y azul de metileno usando nanopartículas metálicas



Adaptado de Bogireddy, Ghafour et al., 2022.

Parámetros de estimación del rendimiento catalítico

Cinética de la reacción

Se estimó a partir de la reacción de pseudo primer orden,

$$\ln(C_t/C_0) = -kt$$

$$\ln(C_t/C_0) \text{ vs } t$$

Se pueden obtener los valores del factor de regresión (R^2) y la velocidad de la reacción a partir de la pendiente (k , unidades: $1/s$ o $1/min$), donde, C_0 y C_t indican la concentración inicial y en el tiempo de 4-NP y k es la constante de velocidad aparente.

Parámetros termodinámicos

Energía libre de Gibbs
 $(\Delta G) = \Delta H - T\Delta S$ (1)

De la ecuación de Arrhenius

$$\ln(k) = \left(-\frac{E_a}{R}\right) \frac{1}{T} + \ln(A) \quad (2)$$

$$\ln(k) \text{ vs } \frac{1}{T} \quad -\frac{E_a}{R} = \text{Pendiente}$$

Ecuación de Eyring: $\ln\left(\frac{k}{T}\right) = \left(-\frac{\Delta H}{R}\right) \frac{1}{T} + \ln\left(\frac{K_B}{h}\right) + \frac{\Delta S}{R}$ (3)

$$\ln\left(\frac{k}{T}\right) \text{ vs } \frac{1}{T} \quad ; \quad \left(-\frac{\Delta H}{R}\right) = \text{Pendiente} \quad \text{y} \quad \ln\left(\frac{K_B}{h}\right) + \frac{\Delta S}{R} = \text{Pendiente (c)}$$

donde, A = constante de Arrhenius, cambio de entalpía (ΔH) y entropía, R = 8.314 $J/k * mol$, $K_B = 1.381 \times 10^{-23} J/k$, h = 6.626 $\times 10^{-34} J/k * mol$, T = temperatura absoluta en kelvin, y k = kapp = constante de velocidad de pseudo primer orden, respectivamente.

Parámetro de actividad

$$k' = k/m \quad \text{unidades: } 1/s * mg^{-1} / m^2 in * mg$$

donde, m es la masa del catalizador y k la velocidad de la reacción.

Capacidad de reducción/degradación

$$Q_t = (C_0 - C_t) M / m$$

donde C_0 es el inicial y C_t es la concentración de contaminante en el tiempo (t), m es la masa del catalizador y M es la masa del contaminante orgánico, respectivamente.

Eficiencia de conversión

Eficiencia de conversión (%) = $\frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100$ donde C_0 y C_t son la absorbancia de la solución de 4-nitrofenol al inicio y con el tiempo (t), respectivamente.

Conclusiones

Esta descripción general de las nanopartículas metálicas sostenibles mediadas por plantas y su progreso reciente en la eliminación de los principales contaminantes ambientales revela su desarrollo acelerado en los últimos años. Sin embargo, aún deben abordarse algunos desafíos para su posible escalabilidad y aplicación como purificadores de la vida diaria económicamente viables. Varios precursores sostenibles menos explorados, incluidos los desechos reciclados, los biomateriales y los residuos, deben evaluarse para la fabricación de nanopartículas. Se requieren estudios más exhaustivos para desarrollar una sonda de catalizador estable y reutilizable. La próxima exploración de los sistemas de purificación de agua que utilizan nanopartículas obtendrá una gran atención en la eliminación de contaminantes de alimentos, agricultura y textiles debido a su simplicidad, biocompatibilidad y rentabilidad.

Referencias

- Anna, K. K., Bogireddy, N. K. R., Agarwal, V. & Bon, R. R. (2022). Synthesis of α and γ phase of aluminium oxide nanoparticles for the photocatalytic degradation of methylene blue under sunlight: a comparative study. *Materials Letters*, 317. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2022.132085>
- Anna, K. K., Bogireddy, N. K. R. & Ramírez-Bon, R. (2020). Synthesis of cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) capped copper oxide nanocubes for the remediation of organic pollutants using photocatalysis and catalysis. *Nanotechnology*, 32(10). <https://doi.org/10.1088/1361-6528/abccee>
- Bogireddy, N. K. R. & Agarwal, V. (2019). *Persea americana* seed extract mediated gold nanoparticles for mercury (II)/iron (III) sensing, 4-nitrophenol reduction, and organic dye degradation. *RSC Advances*, 9(68), 39834-39842. <https://doi.org/10.1039/C9RA08233F>
- Bogireddy, N. K. R., Anand, K. K. H. & Mandal, B. K. (2015). Gold nanoparticles-synthesis by *Sterculia acuminata* extract and its catalytic efficiency in alleviating different organic dyes. *Journal of Molecular Liquids*, 211, 868-875. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.07.027>
- Bogireddy, N. K. R., Anand, K. K. H. & Mandal, B. K. (2016). Biofabricated silver nanoparticles as green catalyst in the degradation of different textile dyes.

- Journal of Environmental Chemical Engineering*, 4(1), 56-64. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2015.11.004>
- Bogireddy, N. K. R., Ghafour E. H., Mejia, Y. R., Kesarla, M. K., Varma, R. S., Becerra, R. H. & Agarwal, V. (2022). Pyridinic N anchored Ag and Au hybrids for detoxification of organic pollutants. *Nature Partner Journal Clean Water*, 5(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/s41545-022-00187-w>
- Bogireddy, N. K. R., Ghafour E. H., Muñiz, J., Elías, A. L., Lei, Y., Terrones, M. & Agarwal, V. (2021). Integration of nitrogen-doped graphene oxide dots with Au nanoparticles for enhanced electrocatalytic hydrogen evolution. *ACS Applied Nano Materials*, 4(11), 11513-11525. <https://doi.org/10.1021/acsanm.1c01872>
- Bogireddy, N. K. R., Godavarthi, S., Kesarla, M. K., Agarwal, V. & Martínez-Gómez, L. (2020). Highly exfoliated g-C₃N₄ as turn OFF-ON (Ag⁺/CN⁻) optical sensor and the intermediate (g-C₃N₄@ ag) for catalytic hydrogenation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(6). <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104579>
- Bogireddy, N. K. R., Gomez, L. M., Osorio-Roman, I. & Agarwal, V. (2017). Synthesis of gold nanoparticles using *Coffea Arabica* fruit extract. *Advances in Nano research*, 5(3), 253-260. <https://doi.org/10.12989/anr.2017.5.3.253>
- Bogireddy, N. K. R., Pal, U., Gomez, L. M. & Agarwal, V. (2018). Size controlled green synthesis of gold nanoparticles using *Coffea arabica* seed extract and their catalytic performance in 4-nitrophenol reduction. *RSC Advances*, 8 (44), 24819-24826. <https://doi.org/10.1039/C8RA04332A>
- Bogireddy, N. K. R., Pal, U., Kumar, M. K., Domínguez, J. M., Gomez, L. M. & Agarwal, V. (2021). Green fabrication of 2D platinum superstructures and their high catalytic activity for mitigation of organic pollutants. *Catalysis Today*, 360, 185-193. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2019.06.044>
- Bogireddy, N. K. R., Sahare, P., Pal, U., Méndez, S. F. O., Gomez, L. M. & Agarwal, V. (2020). Platinum nanoparticle-assembled porous biogenic silica 3D hybrid structures with outstanding 4-nitrophenol degradation performance. *Chemical Engineering Journal*, 388. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.124237>
- Bogireddy, N. K. R., Silva, R. C., Valenzuela, M. A. & Agarwal, V. (2020). 4-nitrophenol optical sensing with N doped oxidized carbon dots. *Journal of Hazardous Materials*, 386. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121643>
- Bogireddy, N. K. R., Mejia, Y. R., Aminabhavi, T. M., Barba, V., Becerra, R. H., Flores, A. D. A. & Agarwal, V. (2022). The identification of byproducts

- from the catalytic reduction reaction of 4-nitrophenol to 4-aminophenol: a systematic spectroscopic study. *Journal of Environmental Management*, 316. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.115292>
- Chang, H., Rho, W. Y., Son, B. S., Kim, J., Lee, S. H., Jeong, D. H. & Jun, B. H. (2021). Plasmonic nanoparticles: basics to applications (i). En B. H. Jun (Ed.), *Advances in Experimental Medicine and Biology*, Vol. 1309 (pp. 133–159). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-33-6158-4_6
- Gericke, M. & Pinches, A. (2006). Biological synthesis of metal nanoparticles. *Hydrometallurgy*, 83(1-4), 132–140. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2006.03.019>.
- Hou, J., Wang, X., Lan, S., Zhang, C., Hou, C., He, Q. & Huo, D. (2020). A turn-on fluorescent sensor based on carbon dots from *Sophora japonica* leaves for the detection of glyphosate. *Analytical Methods*, 12(33), 4130–4138. <https://doi.org/10.1039/D0AY01241F>.
- Jan, M., Eveline V., Vasile, D. H., Ralf, K. (2020). Chapter 2.1.2 Characterization of nanomaterials by transmission electron microscopy: measurement procedures. H. W. Vasile-Dan, E. S. Unger & G. S. Alexander (Eds.), *Characterization of nanoparticles: measurement processes for nanoparticles* (pp. 29–48). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814182-3.00004-3>.
- Kahrilas, G. A., Wally, L. M., Fredrick, S. J., Hiskey, M., Prieto, A. L. & Owens, J. E. (2014). Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles using orange peel extract. *ACS Sustainable Chemical Engineering*, 2(3), 367–376. <https://doi.org/10.1021/sc4003664>.
- Kaur, I., Batra, V., Bogireddy, N. K. R., Torres Landa, S. D. & Agarwal, V. (2022). Detection of organic pollutants, food additives and antibiotics using sustainable carbon dots. *Food Chemistry*, 406. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135029>
- Kazemifard, N., Ensafi, A. A. & Rezaei, B. (2020). Green synthesized carbon dots embedded in silica molecularly imprinted polymers, characterization, and application as a rapid and selective fluorimetric sensor for determination of thiabendazole in juices. *Food Chemistry*, 310. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125812>
- Liu, J., He, H., Xiao, D., Yin, S., Ji, W., Jiang, S., Luo, D., Wang, B. & Liu, Y. (2018). Recent advances of plasmonic nanoparticles and their applications. *Materials* (Basel, Switzerland), 11(10). <https://doi.org/10.3390/ma11101833>

- Mejía, Y. R. & Bogireddy, N. K. R. (2022). Reduction of 4-nitrophenol using green-fabricated metal nanoparticles. *RSC Advances*, 12(29), 18661-18675. <https://doi.org/10.1039/D2RA02663E>
- Ramos, A. P. (2017). Dynamic light scattering applied to nanoparticle characterization. L. D. R. Alessandra, F. Marystela, D. L. L. Fabio, N. O. J. Osvaldo, *Nanocharacterization Techniques* (pp. 99-110). William Andrew Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-49778-7.00004-7>.
- Rezayat, M., Blundell, R. K., Camp, J. E., Walsh, D.A. & Thielemans, W. (2014). Green one-step synthesis of catalytically active palladium nanoparticles supported on cellulose nanocrystals. *ACS Sustainable Chemical Engineering* 2(5), 1241–1250. <https://doi.org/10.1021/sc500079q>
- Senthil Kumar, P., Grace Pavithra, K. & Naushad, M. (2019). Characterization techniques for nanomaterials. En S. Thomas, EH. M. Sakho, N. Kalarikkal, S. Oluwatobi Oluwafemi y J. Wu (Eds.), *Nanomaterials for solar cell applications* (pp. 97-124). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813337-8.00004-7>.
- Şenol, A. M. & Onsaner, Y. (2022). A novel “turn-off” fluorescent sensor based on cranberry derived carbon dots to detect iron (III) and hypochlorite ions. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 424. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2021.113655>
- Sheny, D.S., Mathew, J. & Philip, D. (2011). Phytosynthesis of Au, Ag and Au-Ag bimetallic nanoparticles using aqueous extract and dried leaf of *Anacardium occidentale*. *Spectrochimica Acta - Part A Molecular Biomolecular Spectroscopy*, 79(1), 254–262. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.02.051>.
- Taner, S. & Özdemir, U. (2012). The effects of air pollution on workers' health in different workplaces. *Journal of History Culture and Art Research*, 1(4), 190–198.
- Tang, C.Y. & Yang, Z. (2017). Chapter-8 Transmission Electron Microscopy (TEM). En H. Nidal, F. I. Ahmad, M. Takeshi & O. R. Darren (Eds.), *Membrane Characterization* (pp. 145-159). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63776-5.00008-5>.
- Tu, Y., Wang, S., Yuan, X., Wei, Y., Qin, K., Zhang, Q., Chen, X. & Ji, X. (2020). A novel fluorescent nitrogen, phosphorus-doped carbon dots derived from *Ganoderma lucidum* for bioimaging and high selective two nitrophenols detection. *Dyes and Pigments*, 178. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2020.108316>

- Torres Landa, S. D., Bogireddy, N. K. R., Kaur, I., Batra, V. & Agarwal, V. (2022). Heavy metal ion detection using green precursor derived carbon dots. *iScience*, 25(2). <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.103816>.
- Zhang, Q., Liang, J., Zhao, L., Wang, Y., Zheng, Y., Wu, Y. & Jiang, L. (2020). Synthesis of novel fluorescent carbon quantum dots from *Rosa roxburghii* for rapid and highly selective detection of o-nitrophenol and cellular imaging. *Frontiers in Chemistry*, 8. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00665>

Estudio comparativo de biocarbón generado a partir de bagazo de agave y cáscara de coco, y su aplicación como adsorbente en la remoción de Pb en agua

Mónica AVILEZ FABIAN·

Itzel Celeste ROMERO SOTO··

María de los Ángeles CAMACHO RUIZ··

Norma Guadalupe GONZÁLEZ MONTOYA····

Resumen

El plomo (Pb) es un metal pesado presente en el agua que puede bioacumularse en los tejidos causando grandes problemas de salud. En la actualidad, la búsqueda de alternativas factibles y económicas que ayuden a removerlo se ha convertido en un gran reto. En este trabajo, se investigó el uso de dos residuos, cáscara de coco (CC) y bagazo de agave (Ab), para la producción de carbón activado. El material resultante se aplicó como adsorbente para la remoción de Pb a flujo constante en una columna empacada. Para ello, se evaluó un diseño multifactorial considerando tres variables experimentales: sustrato (CC y Ab), activador (H_2SO_4 concentrado, H_3PO_4 al 85 % y koh 1n) y tamaño de partícula (0.841, 0.420 y 0.250 milímetros [mm]). Los resultados revelaron que las mejores condiciones para la adsorción de Pb tanto para Ab y CC fue el tamaño 0.420 mm, usando H_3PO_4 como activador. El biocarbón procedente de Ab presentó el porcentaje de remoción más elevado (99.83 %). De acuerdo a los resultados obtenidos se pudo determinar que la remoción de Pb por medio de columnas

· Licenciatura en Ingeniería Bioquímica. monimaf772@gmail.com

·· Doctor y profesor investigador en el Centro Universitario del Norte (CUNorte), de la Universidad de Guadalajara. itzel.romero@cunorte.udg.mx

··· Doctora y directora de división de ciencia y tecnología en el CUNorte. angeles_camacho@cunorte.udg.mx

···· Doctor y profesor de tiempo completo en el CUNorte. nggm1377@gmail.com

de adsorción con biocarbón de Ab y cc es viable, prometedora y adecuada para el tratamiento de aguas residuales.

Palabras clave: biocarbón, plomo, adsorción, agua residual.

Introducción

La contaminación del agua por metales pesados (HM) es un problema que ha ido aumentado debido a las actividades antrópicas, lo que representa una enorme amenaza para el medio ambiente y la salud (Wang & Wang, 2019). Los HM se pueden considerar como micro o macronutrientes, sin embargo, en concentraciones elevadas tienen efectos nocivos para la salud (McLaughlin et al., 1999).

A diferencia de los contaminantes orgánicos, los HM no se degradan, y debido a que poseen una alta solubilidad en medios acuosos, persisten en el medio ambiente por años, incluso después de que se haya eliminado la fuente puntual de contaminación (Gall et al., 2015). Como consecuencia los organismos vivos los absorben e ingresan a la cadena trófica y se bioacumulan en grandes concentraciones si son ingeridos más allá de los límites estándar permitidos (Kinuthia et al., 2020) esto trae consigo implicaciones sociales, sanitarias y económicas (Hassanien & Shahawy, 2011; Jaishankar et al., 2014; Mahurpawar Govt, s.f.).

De acuerdo a lo mencionado anteriormente, se han realizado varios estudios sobre la contaminación de cuerpos de agua con HM derivados de actividades mineras, para aguas superficiales y sedimentos de corrientes (Mariana et al., 2021; Lee et al., 2005), y se ha informado que el plomo (Pb) está disperso en corrientes de agua y que conduce a enfermedades pulmonares, hepáticas, cardiovasculares, cáncer, falta de inteligencia e hipertensión en los niños, y en mujeres embarazadas causa aborto espontáneo. Por ello, organizaciones como la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (USEPA), la Organización Mundial de la Salud (OMS), las Normas Oficiales Mexicanas (NOM), etcétera, han establecido directrices para los límites estándar permisibles de HM en agua, con la finalidad de garantizar la seguridad del agua potable (Bartram, 2008).

El impacto ambiental y sanitario que ha generado el Pb ha incentivado a la comunidad científica a desarrollar estrategias para el tratamiento de aguas residuales. Las investigaciones se centran principalmente en el de-

sarrollo de soluciones tecnológicas que sean versátiles y respetuosas con el medio ambiente, además de que sean económicamente viables (Velazquez-Jimenez et al., 2013). Varios enfoques han sido aplicados para la remoción de Pb, por ejemplo, la precipitación química (Harper & Kingham, 1992), el intercambio iónico (Rengaraj et al., 2001), la fotocatálisis (Tahir et al., 2019), la extracción por solventes (Cerna, 1995) y las columnas de adsorción empacadas con biocarbón (Kratochvil & Volesky, 1998).

Diferentes adsorbentes se han utilizado con éxito para la remoción de HM de aguas residuales. Un agente prometedor para la eliminación de Pb es el biocarbón debido a su alta capacidad de adsorción, la cual está relacionada con su área superficial, que es relativamente grande, además de que puede ser preparado a partir de diferentes residuos orgánicos (Xiang et al., 2020; Mariana et al., 2021).

El uso del bagazo de agave para fines agrícolas es bien conocido. Este se emplea como compostaje; además, es utilizado en algunas ocasiones como alimento para animales (Moran-Salazar et al., 2016; Iñiguez et al., 2014). Por otra parte, se ha informado del uso de cáscara de coco en la elaboración de materiales poliméricos sostenibles (Sarki et al., 2011), además de la elaboración de biocarbón (Mozammel et al., 2002).

El uso de la cáscara de coco y bagazo de agave para la producción de biocarbón aplicado en la remoción de Pb es escaso. Es por ello que el presente trabajo es un estudio comparativo entre estos dos biocarbones dirigido a la remoción de Pb en ensayos de columna de adsorción.

Metodología

Colecta y preparación de biomasa

Se realizó la colecta de la biomasa para la elaboración del biocarbón de cáscara de coco y bagazo de agave. Los residuos orgánicos fueron proporcionadas por comerciantes del municipio de Colotlán, Jalisco, y de la tequilera Trujillo, ubicada en Tepatitlán-Arandas km 6.3, Rancho El Cuatro (Posta del 4), 47700, Capilla de Guadalupe, Jalisco.

Estos residuos fueron secados a temperatura ambiente (entre 22 a 25 °C) bajo radiación solar durante tres días. La selección de los residuos fue dictada por el hecho de que, en investigaciones previas sobre remoción de metales pesados en efluentes, dichos materiales mostraron valores de

remoción elevados, además de su biodisponibilidad en la zona de estudio (Xiang et al., 2020; Moran-Salazar et al., 2016).

Preparación del biocarbón

Para la preparación de cada biocarbón se aplicó un proceso de activación química por impregnación con H_3PO_4 , H_2SO_4 y KOH en una proporción 1:1, durante 24 hrs a 80 °C. La pirólisis es considerada el mejor proceso para la producción de biocarbón. Es por ello que la fracción se activó térmicamente a 500 °C durante una hora en mufla.

Después del tratamiento las muestras fueron lavadas con agua destilada hasta obtener un pH neutro. Los gránulos obtenidos se secaron a 105 °C, se trituraron y se tamizaron en tamaño de partícula de 20, 40 y 60, y posteriormente fueron utilizados para la experimentación.

Condiciones de operación y diseño experimental

Los reactivos químicos utilizados en esta investigación fueron de grado analítico, y las soluciones se prepararon con agua destilada. Los estudios de adsorción se realizaron en modo continuo con flujo ascendente. El sistema estaba integrado por una columna cilíndrica de acrílico con diámetro interno de un centímetro (cm) y una altura de cinco cm.

Se utilizó una bomba peristáltica Masterflex fh10 para mantener un flujo de 8 ml/min (figura 1). Para el desarrollo del experimento, la columna se empacó con una cantidad de biocarbón conocida (tabla 1) con base en el diseño experimental. Se utilizó una fina capa de arena sobre la base para evitar la pérdida del adsorbente durante el paso del flujo de la solución en la columna. El sistema operó a temperatura ambiente (22-25 °C). Se utilizó un diseño multifactorial utilizando tres variables experimentales: el agente activador (H_2SO_4 , H_3PO_4 y KOH), el tamaño de partícula (20, 40 y 60) y el sustrato (bagazo de agave [Ab] y de cáscara de coco [cc]). Las pruebas se realizaron por triplicado, y la recolección de muestra se realizó a los 10 minutos (min) después de pasar la solución de plomo por la columna.

Figura 1. Columna experimental operada a flujo continuo
a una concentración de Pb de 10 mg/l



Elaboración propia.

Calibración del electrodo de ión selectivo

Para la calibración del electrodo se utilizó el método de adición de estándar, el cual consiste en la adición de un volumen fijo de una solución estándar de Pb (*Lead Standard for aas de sigma aldrich*) a las soluciones diluyendo a un volumen final constante (10, 100 y 1000 partes por millón [ppm]).

Posteriormente, se procedió a determinar la señal de los estándares con el electrodo de ión selectivo (ise) de combinación plomo/sulfato hi4112 (marca Hanna Instruments). El equipo consta de una pastilla de detección de sulfuro de plomo que produce un cambio de potencial debido al intercambio de iones entre la membrana de la pastilla inorgánica y la

muestra. Los elementos sensores internos se encuentran alojados dentro de un cuerpo duradero de polieterimida.

Procedimiento de análisis para determinar la concentración de Pb

Para la detección de pb en las muestras después del proceso de adsorción se calibró el electrodo con las soluciones estándar de Pb (SIGMA). Para realizar las mediciones, se añadió a cada una de las muestras 200 mL de una solución de ajuste de fuerza iónica (isa hi4012-00 de Hanna Instruments) y 5 mL de una la solución de CH₃OH/formaldehído 1:1, para disminuir la solubilidad, el pellet y los efectos oxidativos.

Las muestras fueron homogenizadas en vórtex. Se realizó una medición inicial y final a cada una de las soluciones para registrar la concentración del Pb y generar gráficas de respuesta en función a la concentración.

Resultados y discusión

En el presente trabajo se consideraron como variables experimentales el activador, el sustrato y el tamaño de partícula. Todos estos parámetros son importantes para evaluar la eficiencia del adsorbente en un proceso de tratamiento de efluentes, ya sea a escala piloto o industrial (Yang et al., 2015).

Los activadores que se emplearon fueron el ácido fosfórico (H₃PO₄), ácido sulfúrico (H₂SO₄) e hidróxido de potasio (KOH). Como sustrato se utilizaron el biocarbón de Ab y de cc. También se realizaron pruebas con dos biocarbones comerciales.

Los tamaños seleccionados para las pruebas fueron el número de malla 20 (850 mm), 40 (425 mm) y 60 (250 mm). Las condiciones de operación del diseño fueron de un gramo de biocarbón para cada sustrato, una concentración inicial de pb de 10 mg/l y un flujo constante de 8 ml/min (tabla 1).

Tabla 1. Diseño experimental para la determinación del tamaño de partícula y activador óptimo para el proceso de adsorción y porcentaje de saturación a los 10 minutos

Sustrato	Activador	Tamaño de partícula	R (%) de Pb a los 10 min
Agave	H ₂ SO ₄	20 (850 µm)	86.00
	H ₃ PO ₄		88.00
	KOH		67.60
Coco	H ₂ SO ₄		57.20
	H ₃ PO ₄		86.00
	KOH		23.40
Agave	H ₂ SO ₄	40 (425µm)	96.80
	H ₃ PO ₄		99.83
	KOH		93.69
Coco	H ₂ SO ₄		62.80
	H ₃ PO ₄		92.00
	KOH		69.30
Agave	H ₂ SO ₄	60 (250 µm)	93.19
	H ₃ PO ₄		98.24
	KOH		92.98
Coco	H ₂ SO ₄		79.00
	H ₃ PO ₄		87.40
	KOH		22.00
Comercial 1			31.60
Comercial 2			24.30

R = Remoción

Elaboración propia.

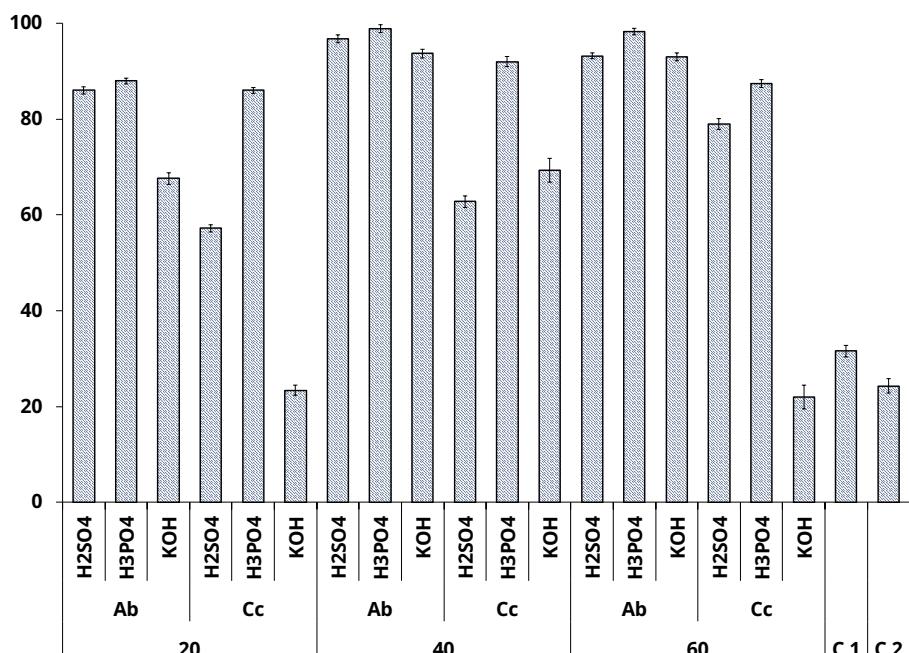
Para una representación más precisa, se graficó el porcentaje de remoción del biocarbón de Ab y cc obtenido con los diferentes tamaños de partícula con los diferentes activadores.

En la figura 3 se muestra que el mejor activador para el Ab es el H₃PO₄ tanto para el tamaño de partícula 20, como el 40 y el 60, donde se obtuvieron porcentajes de remoción de 88, 99.83 y 98.24 % respectivamente. Estos resultados son similares a los obtenidos por Noemi Ortiz et. al. (2020), quien encontró un 99 % de remoción de iones de pb en una solución acuosa.

sa de 100 mg/l con una dosis de 0.1 gramos de adsorbente a los cinco minutos (Cholico-González et al., 2020). C1 y C2 corresponden a biocarbones comerciales, donde se observa una baja eliminación de Pb comparada con la encontrada tanto en el Ab y cc con los diferentes activadores.

De igual manera se muestra el porcentaje de remoción a los 10 minutos de los tamaños de partícula para el biocarbón de cc. En este caso el activador con la mayor remoción fue el H₃PO₄ obteniendo una eliminación de Pb de 86, 92 y 87.4 %, lo que indica que la capacidad de adsorción del biocarbón es elevada, tal como lo demostró Anirudhan & Sreekumari (2011). En su estudio donde logró el 92 % de la remoción de Pb en aguas residuales con tamaño de partícula de 40.

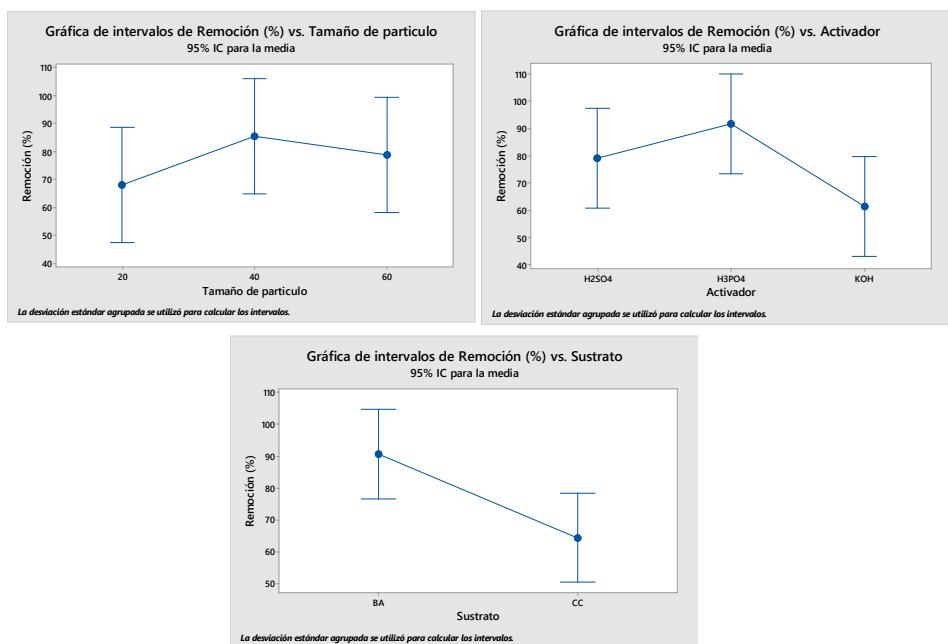
Figura 3. Gráfica de comparación de los tamaños de partícula (20, 40 y 60) versus el porcentaje de remoción a los 10 minutos para el biocarbón de Ab y cc



Elaboración propia.

En el panel 5A se observa que las medias, al estar a un nivel similar, se encuentran dentro de los límites de decisión; por lo tanto, no existe una diferencia significativa, por lo que podemos concluir que el tamaño de partícula 40 remueve mayor cantidad de Pb. Sin embargo, no existe diferencia significativa con el tamaño de 20 y 60. En la figura 5B, de igual manera, al estar dentro de los límites de decisión, se determinó que no hay diferencia significativa entre los activadores; sin embargo, el mejor activador fue el H₃PO₄. En la imagen 5C, de acuerdo a la diferencia de medias, no existe una diferencia significativa entre los tipos de sustratos, pero se puede concluir que el mejor sustrato para la remoción de Pb es el AB.

Figura 4. A) Gráficas de intervalos de remoción de Pb y el tamaño de partícula,
B) Gráficas de intervalos de remoción con los diferentes activadores y
C) Gráficas de intervalos de remoción en los diferentes sustratos



Elaboración propia.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se determinó que el tamaño de partícula 40 y el H₃PO₄ como activador son aptos para la remoción de Pb de efluentes contaminados, debido a que bajo estas condiciones se obtuvo el porcentaje de remoción más elevado.

Se seleccionaron los diferentes activadores debido a que en diversos estudios los han reportan como activadores eficientes (Velazquez-Jimenez et al., 2013). Ambos sustratos no se habían evaluado en las condiciones establecidas en esta investigación para la remoción de Pb, y son residuos que se generan en gran cantidad en diferentes zonas de México, por lo que es importante buscar alternativas que les den valor agregado para su aprovechamiento en la solución de problemas ambientales.

Conclusiones

El análisis de los parámetros operativos en la adsorción continua de Pb por una columna empacada con biocarbón generado a partir de bagazo de agave y cáscara de coco determinó que las condiciones de operación óptimas para la remoción de Pb de efluentes son el tamaño de partícula 40 y, como activador, el H₃PO₄. Además de los resultados obtenidos se puede afirmar que el biocarbón de Ab es un adsorbente prometedor y eficaz que se puede aplicar en sistemas de columna para la remoción de Pb en agua. El estudio realizado se puede visualizar como una vía alternativa para el aprovechamiento de residuos lignocelulósicos para la producción de biocarbón, el cual puede ser de gran interés para el tratamiento de aguas residuales de diferentes industrias.

Referencias

- Anirudhan, T. S. & Sreekumari, S. S. (2011). Adsorptive removal of heavy metal ions from industrial effluents using activated carbon derived from waste coconut buttons. *Journal of Environmental Sciences*, 23(12), 1989–1998. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(10\)60515-3](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(10)60515-3)
- Bartram, J. (2008). *Guidelines for Drinking-water Quality. Third edition incorporating the first and second addenda. Volume 1. Recommendations*. WHO Press, World Health Organization. ISBN 978 92 4 154761 1

- Cerna, M. (1995). Use of solvent extraction for the removal of heavy metals from liquid wastes. *Environmental Monitoring and Assessment*, 34(2), 151–162. <https://doi.org/10.1007/bf00546029>
- Cholico-González, D., Ortiz Lara, N., Fernández Macedo, A. M. & Chavez Salas, J. (2020). Adsorption behavior of Pb(II), Cd(II), and Zn(II) onto agave bagasse, characterization, and mechanism. *ACS Omega*, 5(7), 3302–3314. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03385>
- Gall, J. E., Boyd, R. S. & Rajakaruna, N. (2015). Transfer of heavy metals through terrestrial food webs: a review. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(4). <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4436-3>
- Harper, T. (1992). *Removal of arsenic from wastewater using chemical precipitation methods*. AGRIS: International Information System for the Agricultural Science and Technology. <https://AGRIS.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9188030>
- Hassanien, M. A. & Shahawy, A. M. E. (2011). Environmental heavy metals and mental disorders of children in developing countries. En L. I. Simeonov, M. V. Kochubovskiy B. G. Simeonova (Eds.), *NATO Science for Peace and Security Series C: Environmental Security* (Vol. 1, pp. 1–25). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0253-0_1
- Iñiguez, C. G., Bernal, C. J. J., Ramírez, M. W. & Villalvazo, N. J. (2014). Recycling agave bagasse of the tequila industry. *Advances in Chemical Engineering and Science*, 04(02), 135–142. <https://doi.org/10.4236/aces.2014.42016>
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B. & Beeregowda, K. N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7(2), 60–72. <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>
- Kinuthia, G. K., Ngure, V., Beti, D., Lugalia, R., Wangila, A. & Kamau, L. (2020). Levels of heavy metals in wastewater and soil samples from open drainage channels in Nairobi, Kenya: community health implication. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-65359-5>
- Kratochvil, D., & Volesky, B. (1998). Advances in the biosorption of heavy metals. *Trends in Biotechnology*, 16(7), 291–300. [https://doi.org/10.1016/s0167-7799\(98\)01218-9](https://doi.org/10.1016/s0167-7799(98)01218-9)
- Lee, J. Y., Choi, J. C. & Lee, K. K. (2005). Variations in heavy metal contamination of stream water and groundwater affected by an abandoned lead-zinc mine in Korea. *Environmental Geochemistry and Health*, 27(3), 237–257. <https://doi.org/10.1007/s10653-004-3480-7>

- Mahurpawar, M. (2015). Effects of heavy metals on human healththeffects of heavy metals on human health. *International Journal of Research - Granthaalayah*, 3(9), 1–7. <https://doi.org/10.29121/granthaalayah.v3.i9se.2015.3282>
- Mariana, M., Abdul, A. K., Mistar, E. M., Yahya, E. B., Alfatah, T., Danish, M. & Amayreh, M. (2021). Recent advances in activated carbon modification techniques for enhanced heavy metal adsorption. *Journal of Water Process Engineering*, 43. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102221>
- McLaughlin, M. J.; Parker, D. R. & Clarke, J. M. (1999) Metals and micro-nutrients-food safety issues. *Field Crops Research*, 60(1-2), 143-163. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(98\)00137-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(98)00137-3)
- Moran-Salazar, R. G., Marino-Marmolejo, E. N., Rodriguez-Campos, J., Davila-Vazquez, 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 (United Kingdom)*, 37(10), 1220–1231. <https://doi.org/10.1080/09593330.2015.1108368>
- Mozammel, H. M., Masahiro, O. & Sc, B. (2002). Activated charcoal from coconut shell using ZnCl₂ activation. *Biomass and Bioenergy*, 22(5), 397-400. [https://doi.org/10.1016/s0961-9534\(02\)00015-6](https://doi.org/10.1016/s0961-9534(02)00015-6)
- Rengaraj, S., Yeon, K. H., & Moon, S. (2001). Removal of chromium from water and wastewater by ion exchange resins. *Journal of Hazardous Materials*, 87(1–3), 273–287. [https://doi.org/10.1016/s0304-3894\(01\)00291-6](https://doi.org/10.1016/s0304-3894(01)00291-6)
- Sarki, J., Hassan, S. B., Aigbodion, V. S. & Oghenevweta, J. E. (2011). Potential of using coconut shell particle fillers in eco-composite materials. *Journal of Alloys and Compounds*, 509(5), 2381–2385. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2010.11.025>
- Tahir, M. B., Kiran, H. & Iqbal, T. (2019). The detoxification of heavy metals from aqueous environment using nano-photocatalysis approach: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(11), 10515–10528). <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04547-x>
- Velazquez-Jimenez, L. H., Pavlick, A. & Rangel-Mendez, J. R. (2013). Chemical characterization of raw and treated agave bagasse and its potential as adsorbent of metal cations from water. *Industrial Crops and Products*, 43(1), 200–206. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.06.049>
- Wang, J. & Wang, S. (2019). Preparation, modification and environmental application of biochar: a review. *Journal of Cleaner Production*, 227, 1002–1022. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.04.282>

- Xiang, W., Zhang, X., Chen, J., Zou, W., He, F., Hu, X., Tsang, D. C. W., Ok, Y. S. & Gao, B. (2020). Biochar technology in wastewater treatment: a critical review. *Chemosphere*, 252. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126539>
- Yang, Q., Zhong, Y., Li, X., Li, X., Luo, K., Wu, X., Chen, H., Liu, Y. & Zeng, G. (2015). Adsorption-coupled reduction of bromate by Fe(II)-Al(III) layered double hydroxide in fixed-bed column: experimental and breakthrough curves analysis. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 28, 54–59. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2015.01.022>

Plan de gestión de riesgos y puntos críticos de control en la purificación de agua

Verónica FISHER SALAZAR·

Bertha María Rocío HERNÁNDEZ SUÁREZ··

Victor Manuel RIVERA ARREDONDO···

Rocío de los Ángeles GARCÍA HERNÁNDEZ····

Resumen

La falta de procedimientos adecuados para garantizar la seguridad del agua potable suele provocar altas tasas de mortalidad humana asociadas a enfermedades transmitidas por el agua. Gran cantidad de plantas purificadoras de agua operan con desconocimiento de los peligros a los que está expuesta constantemente su operación y que ponen en riesgo la inocuidad de su producto, lo que repercute en la salud de los consumidores. Monitorear únicamente la operación dentro de las plantas purificadoras con los parámetros establecidos por las entidades reguladoras ocasiona que se desconozcan los peligros y puntos críticos del proceso y que los controles sean inexistentes, lo que da lugar a contaminación por bacterias, algas y hongos. Esto puede afectar la salud y preferencia del cliente y ocasionar pérdida de la confianza en el producto, así como el incumplimiento de las normas sanitarias. Uno de los requerimientos esenciales de calidad en el agua purificada es la inocuidad, sin embargo, es una característica que no es percibida fácilmente por los clientes, quienes consideran el color, olor y sabor principalmente. Implementar una metodología basada en herramientas de ingeniería de la calidad permitirá identificar los peligros y puntos críticos del proceso, evaluar los riesgos asociados y realizar una propuesta de control que permita gestionar el riesgo para garantizar la inocuidad. El objetivo de este trabajo fue proponer un plan de gestión de

· Universidad Veracruzana-Región Xalapa. rocigarcia@uv.mx

·· Facultad Ciencias Químicas Xalapa, Universidad Veracruzana. berthernandez@uv.mx

··· Universidad Veracruzana. vicrovivera@uv.mx, <https://orcid.org/0000-0003-0630-8404>

···· Universidad Veracruzana. rocigarcia@uv.mx, <https://orcid.org/0000-0003-4333-2657>

riesgos y puntos críticos de control en un modelo de planta purificadora, que pueda ser aplicado a sistemas semejantes.

Palabras clave: planta purificadora, gestión de riesgos, puntos críticos de control.

Introducción

En 2010 la Asamblea General de las Naciones Unidas reconoció el acceso al agua potable limpia y segura y al saneamiento como un derecho humano fundamental. Los problemas relacionados con la calidad del agua constituyen un reto importante, tanto para los países desarrollados como para los que se encuentran en desarrollo. Sin embargo, a pesar de los esfuerzos y las iniciativas mundiales para promover el acceso al agua potable, son muchos los retos técnicos, institucionales, financieros y políticos que aún se deben afrontar. La calidad del agua está profundamente vinculada a la salud humana, pero también al crecimiento económico y el desarrollo social.

Particularmente, el agua que llega a los hogares mexicanos incumple con las especificaciones para ser considerada apta para el consumo humano, por lo que existe en México una gran cantidad de empresas desde multinacionales hasta pequeñas plantas purificadoras de agua que tienen como finalidad proporcionar a la población agua inocua y que no represente ningún riesgo significativo para la salud de los consumidores. El agua potable es aquella apta para el consumo humano y que no supone un riesgo para la salud por estar libre de microorganismos y sustancias tóxicas. Es una combinación de aguas que se encuentran en la superficie del suelo y aguas subterráneas. El agua superficial incluye a los ríos, lagos y represas. Las aguas subterráneas provienen del subsuelo.

La calidad del agua potable puede variar de un lugar a otro. Esta depende de la condición de la fuente del agua y del tratamiento que recibe. Considerando esto, el agua purificada es agua potable que ha sido sometida a un proceso fisicoquímico y de desinfección de microorganismos y que es envasada en recipientes de cierre hermético e inviolable, fabricados de material grado alimentario (Quizhpe, 2019). La seguridad del agua purificada radica en que se puede controlar mejor su calidad, al seleccionar la fuente de abastecimiento y aplicar normas más estrictas para su purifi-

cación. Sin embargo, no está exenta de problemas que pueden surgir del proceso de purificación, el envasado, manejo y almacenamiento del agua durante largos períodos de tiempo, o bien, por no haber limpiado o desinfectado adecuadamente los recipientes donde se almacena. Por tanto, resulta de suma importancia el control de todas las fases del proceso de purificación, para evitar que se dé una contaminación por mal manejo en algún punto del proceso.

La purificación de agua para consumo humano consiste en extraer, desactivar o eliminar los microorganismos patógenos existentes. Cuanto mayor sea la calidad de la fuente de abastecimiento menores serán los tratamientos de potabilización a los que habrá que someterla (Quizhpe, 2019). La Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, “Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización”, establece los tratamientos para la potabilización del agua. Para la contaminación biológica establece procedimientos de desinfección con cloro, compuestos de cloro, ozono o luz ultravioleta, por lo que el proceso de la planta —el cual consiste en filtrar y almacenar el agua cruda, seguido del bombeo a través de tres filtros de 1 pie³ de capacidad que contienen arena y grava, zeolita y carbón activado, para posteriormente pasar a través de dos filtros pulidores de 4.5 x 20 pulgadas con un poro de 5 y 1 micra respectivamente y una lámpara de luz ultravioleta, finalmente se inyecta ozono y pasa a través de un generador de iones de plata— cumple con la norma respecto a los procedimientos para la desinfección biológica. Para las características físicas y organolépticas se establecen los tratamientos de coagulación-flocculación-precipitación-filtración, cualquiera o la combinación de ellos, adsorción en carbón activado u oxidación, procedimientos con los cuales cumple también el proceso analizado.

Baouab & Cherif (2017) realizaron un estudio para reducir el número de análisis para la evaluación de la calidad del tratamiento del agua potable en Túnez. Las mediciones se realizaron en tres plantas, tanto en el agua cruda como en el agua tratada. Se dividieron las mediciones en tres grupos: 1) salinidad, conductividad, dureza, calcio, magnesio y cloruros; 2) turbiedad y materia orgánica, y 3) pH y alcalinidad. Como resultado se obtuvo que solo tres parámetros eran suficientes: conductividad, turbidez y pH. También se observó que la calidad del agua cruda es más importante que el tipo de proceso de purificación en la calidad resultante del agua pu-

rificada. Esto se puede generalizar para las plantas de tratamiento de agua independientemente del proceso. Además, genera un ahorro substancial de tiempo, reactivos químicos, electricidad y duración de los equipos.

Por otro lado, Vásquez Reino (2018) realizó un estudio para analizar la variabilidad de la dureza y la alcalinidad de un proceso de desmineralización del agua, como materia prima para la elaboración de bebidas. Para ello, se utilizó la metodología del ciclo de la calidad PHVA y el diseño de experimentos, con el objetivo de reducir la variabilidad del proceso, aumentar su capacidad y establecer un plan de mejora que sea sostenible en el tiempo. Sus resultados fueron los siguientes: el análisis preliminar concluyó que el proceso era clase 4, es decir, no adecuado, inestable, incapaz, de alta variabilidad y que necesitaba serios cambios. Sin embargo, con la implementación de la mejora se consiguió que el proceso se comportara como clase 1: adecuado, estable, capaz, con baja variabilidad.

Identificar los riesgos en el proceso de contaminación durante el proceso de purificación y envasado del agua es determinante para garantizar la calidad del producto, la satisfacción del cliente y el cuidado de su salud, pues de acuerdo con la Secretaría de Salud (2000), el 50 % de los establecimientos dedicados al envasado de agua tienen irregularidades que no garantizan su calidad. Lo anterior revela que es fundamental para cualquier planta purificadora de agua Identificar los puntos donde aparecen los peligros biológicos, físicos o químicos más importantes para la seguridad del agua, en las diferentes etapas del proceso, con el objetivo de adoptar medidas precisas y evitar que se desencadenen los riesgos de presentación de los peligros. Esto permitiría, a partir de los fallos, hacer un análisis de las causas que los han motivado y adoptar medidas que permitan reducir o eliminar los riesgos asociados a esos fallos.

Metodología

Después de conocer el proceso y revisar la normatividad, se realizó un análisis causa-efecto para determinar las causas de los riesgos que pueden existir en cada una de las etapas del proceso de purificación. Posteriormente, se realizó un análisis de modo y efecto de fallo (AMEF) donde se calificó la severidad, ocurrencia y detección y se obtuvo el numero prioritario de riesgo. Adicionalmente, se determinaron los riesgos y los puntos críticos de control utilizando el sistema de Análisis de Peligros y de Puntos

Críticos de Control (HACCP). Con base en los puntos críticos y riesgos y las prioridades, se establecieron las medidas de monitoreo y control y se elaboró la propuesta para gestionarlos.

Fase 1. Evaluación de los riesgos en el proceso de purificación

Análisis causa–efecto

Mediante el diagrama de Ishikawa, se realizó un análisis causa-efecto para determinar las causas que ocasionan las fallas; estas se determinaron a través de una lluvia de ideas, generada con el propietario, el encargado de la planta y los operadores. Una vez determinadas las causas, se agruparon de acuerdo con la metodología *seis emes*: mano de obra, maquinaria, materiales, métodos, mediciones y medio ambiente. Esto para identificar cuál es el área donde se encuentra el mayor número de causas potenciales de fallo, y es en este punto donde se estimó la ocurrencia, la probabilidad de que la falla ocurra.

Análisis de modo y efecto de falla

Tomando como base la metodología AMEF, se identificaron cada una de las etapas del proceso de purificación y se enlistaron las fallas potenciales que podrían existir. Posteriormente, para cada uno de los modos de falla identificados, se determinaron los posibles efectos que generan. Una vez identificados los modos de falla y sus efectos, se calificó la severidad (s) del modo de falla en una escala del 1 al 10, en el que uno es insignificante, y diez, catastrófico. Es posible que un modo de falla tenga más de un efecto, por lo que se consideró el efecto que mayor severidad generara.

Determinación de la ocurrencia

La ocurrencia (o) se evaluó en una escala del 1 al 10: 1 era improbable, y 10, inevitable. El siguiente paso fue identificar los controles que existen para evitar que las fallas se generen, se reduzca la probabilidad de que ocurran o se detecten después de ocurridas. Se asignó el grado de detección a cada control, es decir, qué tan bien pueden detectar una causa o su modo de falla después de generada, antes de que llegue al cliente. La

detección (D) se calificó en una escala que va de 1 a 10, en la que 1 es un control en el que se tiene certeza de qué detectará la falla, y 10, un control con certeza de que no se detectará.

Finalmente se calculó el número de prioridad de riesgo (NPR). Este se obtuvo al multiplicar el grado de severidad (S), ocurrencia (O) y detección (D), con el objetivo de determinar la prioridad de intervención para cada modo de falla.

Fase 2. Determinación de los puntos críticos en el proceso de purificación

Análisis de peligros y puntos de críticos de control

Después de haber analizado y evaluado los modos y efecto de fallo para el proceso de purificación, se determinaron los puntos críticos del proceso a través de la secuencia de decisiones para identificar los PCC, utilizado en la metodología HACCP, que la Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009 (Secretaría de Salud, 2009) establece como guía para el control de las operaciones en empresas de este giro.

La metodología consiste en primer lugar en aplicar la secuencia lógica para la aplicación de un plan haccp, que consiste en formar un equipo de HACCP, describir el producto, determinar el uso al que ha de destinarse, elaborar un diagrama de flujo y confirmarlo *in situ*. Posteriormente se enumeraron todos los posibles riesgos relacionados con cada fase, se ejecutó un análisis de peligros y de las medidas para controlar los peligros identificados. Finalmente, se determinaron los puntos críticos de control (PCC). Esta secuencia se presenta a continuación:

- Formación de un equipo HACCP.
- Descripción del producto.
- Determinación de la aplicación del sistema.
- Elaboración de un diagrama de flujo.
- Verificación *in situ* del diagrama de flujo.
- Enumeración de todos los riesgos posibles.
- Ejecución de un análisis de riesgos.
- Determinación de las medidas de control.
- Determinación de los PCC.

- Establecimiento de los límites críticos para cada PCC.
- Establecimiento de un sistema de vigilancia para cada PCC.
- Establecimiento de medidas rectificadoras para las posibles deviaciones.
- Establecimiento de procedimientos de verificación.
- Establecimiento de un sistema de registro y documentación (Isaza López, 2018, diap. 6).

Fase 3. Determinación de las medidas de control y monitoreo de puntos críticos

En esta fase se recomendaron las acciones para todos los riesgos detectados en el AMEF, los límites críticos para cada PPC y los criterios de monitoreo para cada uno de ellos, así como las medidas correctivas necesarias, en caso de desviaciones, para asegurar y mantener los parámetros dentro de los límites establecidos y, de esta manera, asegurar que cada procedimiento o proceso se encuentre bajo control.

Fase 4. Diseño de la propuesta de gestión de riesgos y puntos críticos

Con los resultados obtenidos en las fases anteriores, en la etapa cuatro se diseñó la propuesta de gestión de riesgos y puntos críticos de acuerdo con las acciones recomendadas para cada modo potencial de falla y su prioridad determinado en el AMEF, así como las medidas preventivas, los procesos de vigilancia y las medidas rectificadoras que se determinaron en el HACCP. Las necesidades de gestión de riesgos y puntos críticos de control se agruparon para cada etapa del proceso de purificación, y estas, a su vez, se agruparon en necesidades de monitoreo, registro, mantenimiento preventivo realizado por operadores, mantenimiento preventivo realizado por técnicos especializados, capacitación, documentación de procedimientos y otros. Se estructuró una propuesta donde se establecieron las directrices para que la empresa gestione los riesgos y PPC con la finalidad de prevenir, eliminar o reducir su impacto en el proceso de purificación de agua.

Resultados y discusión

Evaluación de los riesgos en el proceso de purificación

En la planta purificadora que se utilizó como caso de estudio, se encontró que la empresa cumple con 10 de los 19 tratamientos para la eliminación de los componentes químicos, mientras que los tratamientos para sólidos disueltos totales, sodio, pH y dureza no son necesarios dadas las características de la fuente de abastecimiento. Resalta el hecho de que no se cuenta con los procesos para eliminar aluminio, bario, cadmio, cianuros, cobre, cromo total y plomo, cloruros, fluoruros, sulfatos y zinc, ya que no cuenta con equipo de osmosis inversa o de intercambio iónico. Por lo tanto, es necesario realizar un análisis de la fuente de abastecimiento para determinar si el proceso cuenta con todos los tratamientos adecuados para la eliminación de los componentes químicos presentes en el agua de alimentación.

Análisis causa–efecto

Con la finalidad de detectar las causas de los peligros asociados a cada una de las etapas del proceso de purificación que pueden poner en riesgo la inocuidad del agua purificada se realizó una lluvia de ideas con los empleados y el propietario de la planta purificadora. Los resultados de las lluvias de ideas se estructuraron en diagramas causa–efecto, con lo que se logró la obtención de la tabla 1.

Tabla 1. Causas de riesgo en el proceso de purificación

Materiales	Método	Medio ambiente	Mano de obra	Maquinaria
Filtros de llegada, multicama, carbón y pulidores inadecuados, insuficientes, saturados, pulverizados o contaminados	Método de manipulación, mantenimiento y reemplazo de filtros de llegada, multicama, carbón y pulidores inadecuado y no documentado	Agua turbia	Manipulación, mantenimiento y reemplazo inadecuado de filtros de llegada, multicama, carbón activado y pulidores	Fugas de agua en filtros de llegada, multicama, carbón, pulidores, tubería y equipos
Cisterna sucia. Implementos de limpieza de cisterna contaminados	Método de limpieza de cisterna inadecuado y no documentado	Exposición medio ambiente, filtros de llegada, filtros multicama, carbón, pulidores y cisterna	Manipulación y uso inadecuado de bomba luz, ultravioleta, ozono y iones de plata	Instalación inadecuada de filtros de llegada, bomba, filtros multicama, carbón, pulidores, luz uv, ozono y iones de plata
Comparador de color de cloro y pH opaco, sucio o contaminado	Método de medición de cloro Inadecuado y no documentado	Humedad excesiva medio ambiente	Limpieza de cisterna inadecuado	Fuga de material filtrante filtros multicama y carbón activado
Indicadores de cloro y pH inadecuado, contaminado o caducado	Método de manipulación y uso de bomba, luz uv, ozono y iones de plata inadecuado y no documentado		Procedimiento de medición de cloro erróneo	Falla de bomba, luz UV, Ozono y iones de plata
Lámpara ultravioleta, ozono e iones de plata inadecuados al proceso	Mantenimiento no programado de cisterna y procedimiento no documentado		Inspección y aceptación de materia prima erróneo	
Barra de plata desgastada. Perlas sílica saturadas	Mantenimiento no programado de bomba, luz ultravioleta, ozono y iones de plata			
Falla en indicador electrónico de TDS	Método de Inspección y aceptación de materia prima no documentado			

Elaboración propia.

El análisis causa raíz muestra que entre las principales causas de los riesgos a la inocuidad se encuentran las atribuibles al método, como la falta de procedimientos estandarizados, manuales de operación y programas de mantenimiento preventivo. Además, se identificaron los ocasionados por la mano de obra, como falta de capacitación para el desempeño de las funciones de los operadores, es decir, los procedimientos de mantenimiento y monitoreo de parámetros de desempeño, entre otras. En cuanto a los métodos, la empresa no cuenta con procedimientos establecidos, estandarizados y documentados, por lo que deberán definir procedimientos, roles y funciones del personal y capacitarlo.

Análisis de modo y efecto de falla AMEF

Una vez que se conocieron el proceso, las fases que lo componen, los potenciales modos de fallo y sus causas, se elaboró la tabla de AMEF y se calificó la severidad, la ocurrencia y la detección. El análisis de modo y efecto de falla amef para el proceso de purificación se presenta en la tabla 2.

Tabla 2. Análisis del modo y efecto de falla

Proceso de purificación								
Filtración a través de carbón activado	Contaminado	Crecimiento de microorganismos	7	Desinfección nula o deficiente del agua de alimentación	5	Mantenimiento eventual	4	140
	Fuga material filtrante	Saturación de filtros pulidores	6	Exceso de presión de la bomba	3		4	72
		Presencia de partículas suspendidas en el producto terminado	9	Material filtrante gastado	2		4	72
				Rotura de las trampas de material filtrante				

Plan de gestión de riesgos y puntos críticos de control en la purificación de agua

				Mantenimiento inadecuado (tiempo y forma)				
	Filtro saturado	Presencia de cloro en producto terminado	9 *	Exceso de cloro en el agua de alimentación	4	Determinación de cloro residual por método colorimétrico de ortotolidina en el producto terminado	4	
Microfiltración	Insuficientes	Presencia de partículas suspendidas	9 *	Altos niveles de sólidos suspendidos en el agua	6	Inspección visual eventual	3	162
	Inadecuados	Presencia de partículas suspendidas en el producto terminado	9 *	Filtros que no cuentan con las especificaciones técnicas para retener los sólidos	6		3	162
	Saturados	Presencia de partículas suspendidas en el producto terminado	9 *	Filtros que no tienen mantenimiento periódico	6		3	162
Exposición luz ultravioleta	No sirve	Crecimiento de microorganismos	9 *	Foco fundido, balastre descompuesta	5	Inspección visual del funcionamiento	5	225
	Insuficiente para el proceso		7	Falta de capacidad para el volumen de agua filtrado	3		3	63

Elaboración propia.

El análisis de modo y efecto de falla indica que las prioridades de intervención en el proceso de purificación de agua son las etapas de lavado y llenado de garrafón, ya que el índice de severidad, ocurrencia y el índice de detección son muy altos, seguidos por las fallas en los equipos electrónicos de desinfección. El NPR elevado en las etapas arriba mencionadas. Esto se debe a la alta calificación de la severidad de la falla, ya que este modo de fallo puede ocasionar presencia de microorganismos durante el

proceso del lavado y llenado de garrafón, lo cual puede representar un peligro para la salud del consumidor y, además, ocasiona el incumplimiento de la normatividad.

Otro factor que incrementa el NPR es la detección, ya que no es posible detectar la contaminación de manera inmediata. El muestreo aleatorio y poco representativo de parámetros aunado a que los resultados de los análisis no son inmediatos no permiten tomar medidas rectificadoras oportunas. Por lo tanto, la prioridad de intervención debe centrarse en la estandarización de ambos procedimientos, así como en la capacitación de los operadores para realizarlos.

Scheili et al. (2016), mencionan que ante la falta de recursos financieros y tecnológicos que hace que las pequeñas plantas purificadoras de agua no cuenten con sistemas complejos de purificación y la falta de automatización ocasiona que sean más susceptibles a presentar fallas en la calidad y que el factor humano es una variable importante en el control y operación de estas. Esto corrobora el hallazgo de que el riesgo más importante en el proceso de purificación radica en las etapas de lavado y llenado, donde la operación no es automatizada y existe manipulación por parte de los operadores, lo que incrementa de manera notable los riesgos a la inocuidad.

Determinación de los puntos críticos en el proceso de purificación

Análisis de peligros y puntos críticos de control

Los puntos críticos encontrados en el proceso de purificación de agua son el cloro residual en el tanque de almacenamiento, que de acuerdo con la Secretaría de Salud se debe mantener en un límite crítico de 3 partes por millón (ppm), y el agua purificada no debe exceder de 0.1 mg/L de cloro residual. Por otro lado, existen puntos críticos que es necesario gestionar pero en los que no puede ser monitoreada su efectividad en la operación diaria, como los equipos electrónicos de purificación y las etapas de lavado y llenado de garrafón.

Los riesgos de contaminación microbiológica se pueden presentar por el mal funcionamiento de los aparatos o por una falta de procedimientos adecuados o capacitación de los operadores. El límite crítico no debe exceder

lo establecido por las autoridades sanitarias para los coliformes totales $\leq 1.1.$ NMP/100 ml, lo cual al encontrarse fuera de los límites críticos puede provocar daños a la salud de los consumidores, por lo que la implementación de un monitoreo de funcionamiento y mantenimiento de los aparatos electrónicos de purificación, así como de los procedimientos adecuados y mano de obra calificada para los procedimientos de lavado y llenado de garrafón lograrán disminuir los riesgos.

Determinar las medidas de control y monitoreo de los riesgos y puntos críticos de control

En la tercera etapa, de acuerdo con los resultados del AMEF y del Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control se determinaron las medidas de control y monitoreo de los riesgos y puntos críticos de control para prevenir, disminuir o eliminar los riesgos de contaminación que ponen en peligro la inocuidad del producto terminado. Para el AMEF se establecieron los controles para aquellas etapas del proceso que carecían de ello, y las acciones recomendadas se realizaron de acuerdo con los diagramas causa-efecto realizados en la primera etapa. Las acciones recomendadas se basaron en las causas- efecto encontradas para cada etapa del proceso de purificación. Estas se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Acciones recomendadas considerando el AMEF

ANÁLISIS DEL MODO Y EFECTO DE FALLAS																
Número de proyecto	1			Proceso		Purificación de agua		Producto afectado		Agua purificada						
Responsabilidad	Jerónimo Méndez			Líder del proyecto		Verónica Fisher Salazar		Preparado por		Verónica Fisher Salazar						
Fecha clave	30-may-21			Fecha AMEF original				Última revisión		jun-21						
Función del proceso	Modo de falla potencial	Efecto(s) de la Falla Potencial	S	CRIT	Causa/Mecanismo de la Falla potencial	O	Controles	D	NPR	Acciones recomendadas	Responsabilidad y fecha prometida	Acciones tomadas	S	O	D	NPR
Proceso de purificación																

Capta-ción de agua cruda	Capta-ción de agua turbia	Turbiedad	8		Altos niveles de sólidos suspendidos en la red de suministro en temporada de lluvias	5	Inspección visual	5	200	Monitoreo Inspección visual Filtra-ción previa al almace-namiento					
		Satura-ción de filtros pulidores	6			4		5	120						
		Presencia de par-tículas suspendi-das en el producto terminado	9	*		3		2	54						
Alma-cena-miento	Deficit de cloro	Creci-miento de microor-ganismos	9	*	Medición errónea de la cantidad de cloro presente en el agua cruda y medi-ción errónea en las cantida-des de cloro añadidas para mantener la concentra-ción de cloro dentro de parámetros	5	Determi-nación de cloro resi-dual con método colorimé-trico con ortotoli-dina en el tanque de almacenamiento	10	450	Monitoreo diario de Cl en agua de alimen-tación Monitoreo diario de Cl en tanque de almace-namiento Capac-i-tación de operadores en medición de Cl					
	Exceso de Cloro	Satura-ción de filtro de carbón activado	8			3		3	72						
		Presen-cia de cloro en producto terminado	9	*		4		3	108						
Bom-beo	No sirve	Se detiene el proceso	10		Desgaste normal	8	No existe	1	80	Programa de mante-nimiento preventido por técnico especializa-do Capa-citación a operadores en uso adecuado del equipo					

Plan de gestión de riesgos y puntos críticos de control en la purificación de agua

	Exceso de presión	Rimpimiento de material filtrante de filtros multicama, zeolita y carbón	7		Calibración deficiente	2			5	70								
		Poco tiempo de contacto entre material filtrante y el agua de alimentación	7			3			5	105								
	Falta de presión	Retrasos	5			3			3	45								
		Falta de velocidad para succión de ozono	9			2			5	90								

Elaboración propia.

Tabla 4.1 Análisis de riesgos y puntos críticos de control

Fase	Peligro(s)	Medida(s) preventiva(s)	PCC	Límite(s) crítico(s)	Procedimiento(s) de vigilancia	Medida(s) rectificadora(s)	Registros
Captación	Turbidez	Filtrado previo	-	-	Monitoreo diario / Inspección visual		
Almacenamiento	Deficiencia o exceso de cloro	-Medición Cloro residual en la llegada de agua de suministro y en el tanque de almacenamiento -Adición de cloro de acuerdo a procedimiento	X	3ppm	Medición Cloro residual método colorimétrico con ortotolidina en tanque de almacenamiento	Introducir al agua de almacenamiento agua de suministro de red.	Bitácora de mediciones de cloro en el tanque de almacenamiento
Bombeo	Exceso o falta de presión	Mantenimiento preventivo	-	-	Mantenimiento preventivo	Mantenimiento correctivo / cambio de equipo	Bitácora de mantenimiento preventivo

Filtro grava, arena y zeolita	Contaminación por deficiencia de cloro en etapa de cloración Fuga material filtrante	Mantenimiento preventivo: retrolavados Mantenimiento correctivo: cambio de materiales filtrantes	-	-	Mantenimiento preventivo	Cambio de material filtrante	Bitácora de mantenimiento preventivo
Filtro carbón activado	Contaminación Turbiedad Presencia de cloro en producto terminado	Mantenimiento preventivo: retrolavados Mantenimiento correctivo: Cambio de materiales filtrantes Control de cloro residual en etapa de almacenamiento	X	0.1 mg/l de cloro residual en la llenadora de garrafones	Monitoreo diario	Cambio de material filtrante	Bitácora de mantenimiento
Filtros pulidores	Turbiedad	Mantenimiento preventivo: Cambio de filtros	-	-	Inspección visual	Cambio de filtros	Bitácora de mantenimiento
Luz ultravioleta	Contaminación Microbiológica	Mantenimiento preventivo	X	Coliformes totales = < 1.1. NMP/100 ml	Análisis microbiológico	Mantenimiento correctivo/cambio equipo	Bitácora mantenimiento preventivo
Ozono	Contaminación microbiológica	Mantenimiento preventivo	X	Coliformes totales = < 1.1. NMP/100 ml	Análisis microbiológico	Mantenimiento correctivo/ cambio equipo	Bitácora de mantenimiento preventivo
Iones de plata	Contaminación microbiológica	Mantenimiento preventivo	X	Coliformes totales = < 1.1. NMP/100 ml	Análisis microbiológico	Mantenimiento correctivo/ cambio equipo	Bitácora de mantenimiento preventivo
Lavado de garrafón	Contaminación microbiológica	Establecer procedimiento	X	Coliformes totales = < 1.1. NMP/100 ml	Análisis microbiológico	No existe	Bitácora de resultados de análisis microbiológicos
Llenado de garrafón	Contaminación microbiológica	Establecer procedimiento	X	Coliformes totales = < 1.1. NMP/100 ml	Análisis microbiológico	No existe	Bitácora de resultados de análisis microbiológicos

Elaboración propia.

Diseño de la propuesta de gestión de riesgos y puntos críticos de control

Las acciones recomendadas se clasificaron en actividades de monitoreo, registro, mantenimiento realizado por operadores, mantenimiento realizado por técnicos especializados, capacitación y establecimiento y documentación de procedimientos de operación necesarios para cada fase del proceso, así como otras actividades que coadyuvan a la gestión de los riesgos y puntos críticos de control, como se observa en la tabla 5.

Tabla 5. Acciones y frecuencia recomendada

Fase	Monitoreo	Registro	Mantenimiento (operadores)	Mantenimiento (técnicos)	Capacitación	Documentación procedimientos
Captación	Turbiedad / diario Cloro residual /diario		Mantenimiento fitros agua cruda/ semanal			Medición de cloro residual
Almacenamiento	Cloro residual /diario	Bitácora de cloro residual / diario	Lavado de cisterna/ Trimestral			Lavado de cisterna/ medición de cloro residual
Bombeo			Mantenimiento	Cuatrimestral		
Filtro grava, arena y zeolita		Programación semanal	Retrolavado semanal			Mantenimiento
Filtro carbón activado	Cloro residual /diario	Monitoreo diario/ mto. semanal	Retrolavado semanal			Mantenimiento
Filtros pulidores			Cambio mensual			
Luz ultravioleta	Funcionamiento / Diario	Trimestral		Trimestral		

Ozono	Funciona-miento / Diario	Trimestral		Trimestral		
Iones de plata	Funciona-miento / Diario	Trimestral		Trimestral		
Lavado de garrafón	Sanitiza-ción/ diaria		Diario		BPM	Lavado
Llenado de garrafón	Sanitización diaria		Diario		BPM	Llenado
Otros aspec-tos a consi-derar:						
Ph	Diario	pH diario				Medición de pH
Análisis mi-crobiológicos	Semanal	Coliformes totales Semanal				
Análisis químicos	Anuales	Metales, metaloides y compuestos inor-gánicos. Compues-tos orgánicos sinté-ticos. Subproductos desinfección.				
Fumigación		Semestral				
Tds	Diario	Sólidos disueltos/ diario				Medición de TDS
Incidentes	Registro diario					
Sanitización líneas	Quincenal					

Elaboración propia.

Conclusiones

Se propuso realizar el control de los puntos críticos mediante el monitoreo y registro de las variables en bitácoras. Sin embargo, se encontró que exis-ten otros puntos críticos de control como el proceso de lavado y llenado de garrafón que no son medibles, pero que, por su impacto en la inocuidad,

su gestión es fundamental en tanto no se cuente con los recursos para un rediseño del proceso o un cambio de tecnología que minimice la intervención del factor humano dentro de dichos procesos.

La propuesta de gestión de riesgos y puntos críticos de control se realizó con base en la prioridad determinada en el AMEF, donde se consideran los riesgos de contaminación en el proceso de lavado y llenado de garrafón; sin embargo, para disminuir el número de riesgos asociados a la purificación del agua, se plantearon propuestas para todos los riesgos detectados, ya que todas las acciones en conjunto contribuyen a disminuirlos. Las actividades se agruparon en aquellas que fueron de monitoreo, de registro, de mantenimiento, de capacitación y de documentación.

Referencias

- Baouab, M. H. & Cherif, S. (2017). Revolution impact on drinking water consumption: real case of Tunisia. *Social Indicators Research*, 132(2), 841-859.
- Isaza López, G. (2018, 14 de noviembre). *Métodos de evaluación de riesgos* [Presentación de slideshare]. Universidad ECCI. <https://es.slideshare.net/GloriaIsaza2/metodos-de-evaluacion-de-riesgos-123046201>
- Quizhpe, M. G. (2019). *Las aguas purificadas y sus indicadores de calidad fisiocoquímica*. Cidepro Editorial, S. A.
- Scheili, A., Rodriguez, M. J. & Sadiq, R. (2016). Impact of human operational factors on drinking water quality in small systems: an exploratory analysis. *Journal of Cleaner Production*, 133, 681-690.
- Secretaría de Salud. (2009). *Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios*.
- Secretaría de Salud y Asistencia. (2000). *Norma Oficial Mexicana NOM 127-SSA1-1994. Salud ambiental, agua para uso y consumo humano-limítantes permisibles de calidad y tratamiento a que debe someterse el agua para su potabilización*. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/127ssa14.htm>
- Vásquez Reino, E. W. (2018). Reducción de la variabilidad de un proceso de desmineralización de agua por intercambio iónico para la elaboración de bebidas gaseosas. *Enfoque UTE*, 9(3), 93-105.

Determinación de buenas prácticas de higiene en establecimientos de venta de carne de pollo en el Mercado Juárez de Autlán

Cristina JIMÉNEZ CAMBEROS·
Misael Enrique PASTRANA MICHEL..
Geremías RODRÍGUEZ BAUTISTA...
Demetrio MEZA RODRÍGUEZ....
HAIDEL VARGAS MADRIZ.....
PEDRO FABIAN GRIFALDO ALCÁNTARA.....

Resumen

Los establecimientos de venta de materia prima como las pollerías, presentan condiciones favorables para el crecimiento de microorganismos. De no aplicarse debidamente las buenas prácticas de manufactura, el pollo es un alimento que se convierte en un riesgo para la salud del consumidor. El objetivo del trabajo fue determinar las buenas prácticas de higiene en establecimientos de venta de pollo, en el Mercado Juárez de Autlán. Se realizó un estudio observacional, descriptivo y transversal. Los establecimientos participantes se encuentran ubicados en el mercado municipal Benito Juárez de Autlán, y participaron voluntariamente. Se utilizó el acta de verificación, anexa a la Norma Oficial Mexicana 251, y los resultados se

· Licenciado en Nutrición por la Universidad de Guadalajara en el Centro Universitario del Sur (CUSUR), Ciudad Guzmán, Jalisco. Técnico en alta cocina internacional, por el Colegio Gastronómico Internacional. Maestra en inocuidad de alimentos, por la Universidad para la Cooperación internacional, 2010, San José de Costa Rica.

.. Estudiante de la Licenciatura en Nutrición en el Centro Universitario de la Costa Sur (CUC SUR) de la Universidad de Guadalajara (UDG). Áreas de investigación de interés: alimentación basada en plantas sin procesar y manejo higiénico en servicios de alimentos.

... Doctor en ciencias, originario de la comunidad de Chiatitla, Yahualica Hidalgo. Hablante de la lengua indígena náhuatl. Actualmente, profesor investigador del CUC SUR de la UDG, en el programa de agronomía e integrante del posgrado de Ciencias Agropecuarias. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores desde el 2019. Integrante del Cuerpo académico de Fitosanidad e Inocuidad Alimentaria UDG-CA-985.

.... Profesor e investigador en el CUC SUR de la UDG. Doctorado en Ciencias en Biosistémica, Ecología y Manejo de Recursos Naturales y Agrícolas (UDG). Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel I, perfil PRODEP.

compararon con los parámetros establecidos en la norma. Los resultados que arrojó afirman que los apartados que presentan más deficiencias son capacitación al personal y agua en contacto con los alimentos. El apartado cuyos resultados fueron los mejores es el manejo de residuos. En conclusión, el manejo higiénico en las pollerías evaluadas es deficiente, la mayoría de los establecimientos participantes no cumplen con lo mínimo establecido en la Norma Oficial 251.

Palabras clave: manejo higiénico, pollerías, calidad.

Introducción

“El crecimiento en la producción de carne de ave en México es del 166.4 % de 1994 a 2018, frente a un consumo nacional que registra un aumento del 179.5 % en este periodo” (Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable [CEDRSSA], 2019). Este sector es considerado dentro de la estrategia de seguridad alimentaria del país, ya que contribuye en un 55 % al aporte de proteína, además de que este tipo de carne es económica y versátil. Dicho aporte de proteína y vitaminas es importante para una nutrición adecuada.

Por otra parte, las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) continúan afectando la salud pública. La Organización Mundial de la Salud [OMS] ha estimado que 70 % de las intoxicaciones alimentarias ocurridas en el curso de un año fueron la consecuencia de una calidad higiénico-sanitaria deficiente durante el procesamiento de los alimentos servidos en unidades de alimentación (Cruz, 2013).

Los mercados públicos se han vuelto sitios deteriorados y con condiciones deficientes, en los que se vende gran cantidad de alimentos preparados. Al contar con prácticas de higiene deficientes, existe un riesgo latente para la salud de los consumidores. Las ETA son un problema de

..... Es egresado del Departamento de Ecología y Recursos Naturales de la Universidad de Guadalajara (CUC-Sur), cursó la Ingeniería en Recursos Naturales y Agropecuarios (IRNA), con posgrado en Entomología y Acarología en el Colegio de Posgraduados Campus Montecillo, con Posdoctorado en Postgrado de Horticultura, Departamento de Fitotecnia Universidad Autónoma Chapingo. Es Profesor-Investigador del Centro Universitario de la Costa Sur de la Universidad de Guadalajara, pertenece al Departamento de Producción Agrícola.

..... Biólogo egresado de la Universidad Autónoma Metropolitana - Iztapalapa. Realizó una maestría y doctorado en Entomología y Acarología otorgado por el Colegio de Posgraduados,Campus Montecillo en el Estado de México. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1.

salud pública considerable, ya que afectan a una de cada diez personas, y dependiendo su gravedad, pueden llegar a ser mortales (Arellano Narváez & Acosta Gonzaga, 2020).

Es por ello la importancia de cuidar las prácticas de higiene en los establecimientos de venta de materia prima, en este caso de carne de pollo. Si se determina qué tan apropiadas son las prácticas de higiene en estos establecimientos, podremos conocer áreas de oportunidad para en un futuro fortalecer a estas pequeñas empresas, que son parte importante de la cadena alimentaria.

Metodología

Se realizó un estudio observacional, descriptivo y transversal. Todos los establecimientos participantes en este estudio se encuentran ubicados en las instalaciones del mercado municipal Benito Juárez de la ciudad de Autlán, y participaron todos los establecimientos de venta de pollo de dicho mercado. Se utilizó el acta de verificación, anexa a la Norma Oficial Mexicana 251 “Prácticas de Higiene para Establecimientos de Servicio de Alimentos o Bebidas” (Secretaría de Salud, 2009). Dicha acta contiene apartados que son detallados a continuación:

- Instalaciones y áreas

Se evita la contaminación de materia prima, alimentos, bebidas y suplementos mediante instalaciones adecuadas y en buen estado.

- Equipos y utensilios

Uso de equipos y utensilios hechos de materiales resistentes, instalados de forma que permita su limpieza y desinfección.

- Servicios

Iluminación que permita realizar las operaciones de manera higiénica. Ventilación que evite el calor y condensación excesiva, acumulación de humo y polvo. Agua potable e instalaciones adecuadas.

- Almacenamiento

Control de implementos o utensilios que prevengan la contaminación de los productos.

- Control de operaciones

Prescindir de productos o materiales inútiles u obsoletos. Equipos de refrigeración y congelación que mantengan la temperatura adecuada.

- Materias primas

Almacenarse de acuerdo al sistema PEPS.

- Agua en contacto con los alimentos

El agua debe ser potable, tanto la que esté en contacto con materias primas, productos, superficies y envases como la de fabricación de hielo.

- Mantenimiento y limpieza

Los equipos y utensilios deben estar en buenas condiciones de funcionamiento.

- Control de plagas

Sistema o plan para el control de plagas y erradicación de fauna nociva.

- Manejo de residuos

Se deben adoptar medidas para la remoción periódica y el almacenamiento de los residuos.

- Personal

El personal que prepare o sirva alimentos o bebidas debe presentarse aseado al área de trabajo, con el uniforme o vestimenta y calzado limpios.

- Transporte

Efectuado en condiciones que eviten la contaminación y alteración del producto.

- Capacitación

Todo el personal que opere en las áreas de producción o elaboración debe capacitarse en las buenas prácticas de higiene.

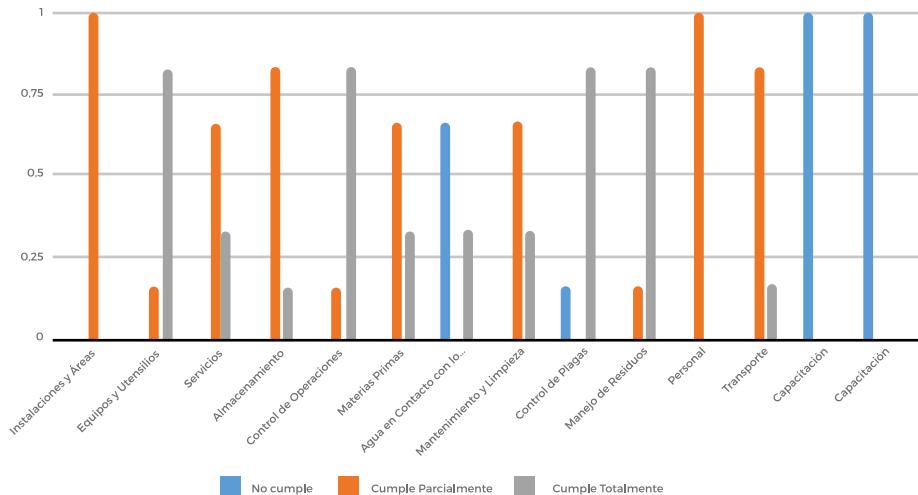
- Control del agua

El agua potable debe cumplir con los límites permisibles de cloro residual libre (0.2-1.5 mg/L) y coliformes totales y fecales (ausencia o no detectables).

Cada apartado incluye cuestionamientos que fueron llenados con un puntaje: 2 en caso de cumplir, 1 si cumple parcialmente y 0 si no cumple. Al final fueron comparados los parámetros establecidos en la norma, para ver si el manejo higiénico es adecuado o deficiente (Secretaría de Salud, 2009).

Resultados y discusión

Figura 1. Resultados del Acta de Verificación NOM 251 en Pollerías Mercado Autlán



Elaboración propia.

La figura 1 representa los porcentajes obtenidos por las pollerías (eje vertical). El color azul es para los porcentajes de “no cumple”; el color naranja, de “cumple parcialmente”, y el color gris, para “cumple totalmente”. Los apartados son los que incluye el acta de verificación anexa a la NOM 251 (eje horizontal).

Instalaciones, áreas y servicios

La totalidad (100 %) de las instalaciones y áreas de los establecimientos cumple solo de manera parcial con prácticas que eviten la contaminación de materias primas y productos. Ningún establecimiento participante cumple de manera total con lo que indica la norma, es decir, sus instalaciones como pisos, paredes, puertas y ventanas no se encuentran en buenas condiciones y están limpias en el momento de la aplicación del acta.

Cumplen parcialmente 66 % de los establecimientos en el apartado de servicios, lo que quiere decir que el drenaje no cuenta con adecuada trampa contra olores, coladeras o canaletas con rejillas, libres de basura,

sin estancamiento y en buen estado y en su caso con trampas para grasa. Por otra parte, solo 33 % cumple totalmente.

La limpieza y la higiene son fundamentales en la cocina por ser el lugar donde habitualmente se manipulan los alimentos y, por tanto, la vía más rápida de entrada para los microorganismos patógenos. (Berlanga de la Peña et. al., 2007). Al igual que en el área de preparación, es vital la higiene de pisos, techos y paredes. Además, las superficies de trabajo deben ser de material liso, lavables, resistentes y estar libres de grietas o hendiduras que puedan acumular suciedad (Espinosa Manfugás, 2014). En el caso de esta investigación, todas las instalaciones manifestaron un cumplimiento parcial. Se debe buscar que todas logren cumplir totalmente.

Equipo y utensilios

Un porcentaje de 83 % de los equipos y utensilios empleados, que están en contacto con materias primas y productos, cumplen totalmente con las características adecuadas; son lisos, lavables, sin roturas y permiten su desinfección; 16 % cumple parcialmente.

Almacenamiento

En el rubro de almacenamiento, 83 % de los establecimientos participantes cumple parcialmente, es decir, no llevan a cabo el sistema PEPS (primeras entradas, primeras salidas). Los almacenes no tienen un orden establecido, lo que puede repercutir en un manejo higiénico adecuado. Las condiciones de almacenamiento no son adecuadas al tipo de materia prima o producto que se maneja. Tan solo 16 % cumple totalmente.

En lo que se refiere a almacenamiento, consideramos que es fundamental establecer el sistema PEPS tanto en insumos perecederos como no perecederos, sin importar su movilidad (Villanueva Martínez et. al, 2014). En el caso de la carne de pollo, al tratarse de un producto perecedero, el PEPS es el sistema ideal para el control de inventarios, ya que de otra manera se corre el riesgo de que el producto se descomponga (Ramírez Hernández, 2018).

Control de operaciones

En el control de operaciones, 83 % cumple totalmente con equipos de refrigeración y congelación que mantengan una temperatura adecuada, y 16 % cumple parcialmente.

Materias primas

En el apartado de materias primas, 66 % cumplen parcialmente con la inspección o clasificación de las materias primas e insumos antes de la producción o elaboración, y solo 33 % cumple totalmente.

Agua en contacto con los alimentos

En el apartado de agua en contacto con los alimentos, 66 % de los establecimientos participantes, manifiestan no cumplir, lo cual indica que el agua en contacto con los alimentos no es purificada, y esto puede representar un riesgo para la inocuidad de los alimentos.

Mantenimiento y limpieza

El mantenimiento y limpieza son importantes para el manejo higiénico, ya que de no llevarse a cabo de forma correcta pueden representar contaminación para los productos que se producen o venden en el establecimiento. En concreto, *mantenimiento y limpieza* se refiere a la limpieza de pisos, paredes, ventanas y que estos no presenten deterioros. En el caso de este trabajo, 66 % cumple parcialmente con los cuidados de mantenimiento y limpieza y únicamente 33 % cumple totalmente con el rubro.

Otras fuentes de contaminación hacia la carne de pollo pueden incluir el agua de lavado, equipos y utensilios que se usan en el proceso de faenado si no han sido previamente lavados y sanitizados adecuadamente, así como los trabajadores cuando no siguen buenas prácticas de higiene; el aire que ingresa y circula por el establecimiento donde se producen y almacenan las canales constituye un mecanismo que puede trasladar contaminación desde zonas sucias hacia zonas limpias donde se produce o almacenan los canales (Cabrera Díaz et. al, 2020). En las pollerías participantes, además de no existir un plan para mantenimiento y limpieza,

se desconoce si el manejo en el rastro municipal es adecuado o si durante el faenado la carne de pollo sufre de contaminación, por lo cual es importante para futuros trabajos organizar programas de mantenimiento y, además, revisar también instalaciones del rastro.

Control de plagas y manejo de desechos

Para el control de plagas, 83 % cumplen de manera adecuada con drenajes con cubierta para evitar la entrada de plagas provenientes del alcantarillado o áreas externas, y el 16 % no cumplen.

Respecto al manejo de residuos, 83 % cumplen de manera adecuada con evitar la acumulación de basura, desechos y desperdicios en la zona destinada para este fin.

En control de plagas, en un trabajo realizado en el Mercado Municipal de Sígsig, se aplicaron encuestas a locatarios y usuarios, así como también una entrevista a su administrador, mediante la cual se conocieron puntos de vista, requerimientos y expectativas indispensables para ofrecer una propuesta basada en la realidad de dicho mercado. Además, se estableció un cordón sanitario para la determinación de plagas presentes. Se concluyó que más de 90 % dieron un resultado positivo a la presencia de plagas, dado que el control de plagas que se realiza en el mercado no es el más adecuado para el tipo y magnitud del local, ya que las frecuencias son muy espaciadas (Izquierdo Idrovo & Arce Vera, 2016). Es conveniente que en el Mercado Juárez se realice un programa de manejo integral de plagas, ya que no existe en las pollerías ningún tipo de vigilancia para prevenirlas o erradicarlas.

La proliferación de plagas (insectos: cucarachas, moscas; mamíferos: ratas, ratones, perros, gatos; aves: gorriones, palomas) donde se preparan alimentos, tiene mucha relación con: a) las condiciones edilicias del establecimiento; b) la forma de almacenar y disponer los desechos en el lugar; c) los tratamientos eficaces de limpieza y desinfección. Antes de utilizar medidas basadas en el uso de sustancias químicas tóxicas para controlar las plagas, se aconseja el uso de medidas físicas que previenen su ingreso y proliferación en el establecimiento (Ruiz et. al, 2021). De acuerdo con el texto de Ruiz et al., lo mejor es comenzar por realizar actividades de mantenimiento y limpieza constante, que contribuyan a prevenir la aparición de plagas, pues también en este rubro, no se cumple con su totalidad y no existen programas de mantenimiento.

Avecillas Guaranda (2021), en un estudio realizado en Isla Trinitaria, donde también se investigaron la implementación de buenas prácticas en establecimientos de venta de carne de un mercado, pudieron observar que en el parámetro de manejo de residuos tenían la presencia de animales callejeros en un 12.5 %, lo que puede representar vectores de enfermedades y, por tanto, un riesgo para la salud de los consumidores. Al no existir un manejo de desechos apropiado, se corre el riesgo de enfermedades y mal aspecto, lo que puede conllevar también a una disminución de las ventas. En el Mercado Juárez, el contenedor de basura se encuentra frente a una carnicería, seguida de dos pollerías, por lo que si desecharan la basura, no hay separación de residuos sólidos, y esto también sería recomendable.

Personal y capacitación del personal

En cuanto al personal, ninguno cumple totalmente con lo establecido en la norma, y tampoco tiene la capacitación que va estrechamente relacionado. La Norma Oficial 251 establece con claridad que los manejadores de alimentos, en cualquier parte de la cadena alimentaria, deben portar red cubre pelo o turbante, mandil o vestimenta de colores claros, limpia, zapato cerrado y antiderrapante, uñas cortas y sin esmalte.

La capacitación en los establecimientos es inexistente, de manera que el personal que opera las áreas de producción o elaboración no se prepara en buenas prácticas de higiene y manufactura de conservación.

Es probable que, debido a la falta de capacitación, se originan los problemas restantes en el manejo higiénico de los alimentos, ya que si los manejadores desconocen los lineamientos que deben seguirse para que el manejo sea apropiado, este no se llevará a cabo. En Arellano Narváez & Acosta Gonzaga (2020), realizaron un estudio para evaluar la efectividad de la implementación de la NOM 251; además, implementaron dos capacitaciones a los dueños de los locales sobre el manejo higiénico de los alimentos para que estos comprendieran la importancia de la inocuidad. Con base en los resultados se observó una mejoría en aspectos como equipo y utensilios, operaciones, manejo de residuos, mantenimiento y limpieza y capacitación.

Los mercados públicos requieren de revisión general en cuanto a sus condiciones sanitarias por razones de higiene, salud y comercio. En un

85 % de los mercados de la Ciudad de México, los locatarios no cuentan con la indumentaria completa, como la ropa adecuada en el área de comida, y en la mayoría de los casos, las personas que preparan los alimentos no siguen las mínimas normas de higiene (Aguilar Juarez, 2016).

La vestimenta apropiada y las reglas de higiene en los manejadores de alimentos contribuye a la disminución de enfermedades, ya que las manos y la ropa pueden ser vehículo de microorganismos patógenos.

Es importante cumplir con las reglas de higiene personal. Es necesario el baño diario, antes de iniciar las labores. Se debe mantener la ropa y el uniforme limpios, las uñas bien recortadas y sin esmalte; el cabello debe estar recogido y cubierto completamente con una red o cofia limpia. Todo el personal debe lavarse las manos y brazos hasta los codos al iniciar labores y después de ir al baño (García Durán & Juárez González, 2013).

Capacitar al personal en un lavado de manos adecuado mejoraría el manejo higiénico, lo mismo que exigirles que cumplan con la vestimenta adecuada.

Transporte

En el apartado de transporte, 100 % de los establecimientos cumplen de manera parcial. Esto se traduce a que los productos no son adecuadamente transportados en condiciones que eviten la contaminación física, química, biológica y por plagas.

Control del agua

En el control de agua, 0 % de los establecimientos cumplen con la norma. Esto quiere decir que no cuentan con registros ni análisis diarios del agua que está en contacto directo con materias primas, productos, superficies o envases primarios, lo cual puede presentar riesgo de contaminación por cloro residual libre, organismos coliformes fecales y totales.

Conclusiones

Las prácticas de higiene son deficientes, ya que la mayoría de establecimientos de venta de carne de pollo en el Mercado Juárez no cumplen con

lo mínimo establecido en la Norma Oficial 251. Se recomienda, en futuros trabajos, brindar capacitación sobre el manejo higiénico de alimentos y su importancia, al personal y a los propietarios de los establecimientos.

Referencias

- Aguilar Juárez, D. G. (2016). *Evaluación del cumplimiento de buenas prácticas de higiene en establecimientos de alimentos para mejorar las condiciones sanitarias del mercado Hidalgo de Querétaro, México* [Tesis de maestría, Escuela Nacional de Salud Pública]. Instituto Nacional de Salud Pública. <http://catalogoinsp.mx/files/tes/54910.pdf>
- Arellano Narváez, R. & Acosta Gonzaga, E. (2020). Prácticas de higiene en el proceso de elaboración de alimentos en microempresas de un mercado de Ciudad de México. *Estudios Sociales. Revista de Alimentación Contemporánea y Desarrollo Regional*, 30(56).
- Avecillas Guaranda, I. C. (2021). *Determinación de las buenas prácticas de manufactura en la venta de carne en el mercado isla trinitaria* [tesis de licenciatura, Universidad Agraria del Ecuador]. Repositorio Institucional de la Universidad Agraria del Ecuador. <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/AVECILLAS%20GUARANDA%20INES%20CAROLINA.pdf>
- Berlanga de la Peña, J. J., Fernández Michel, S. G., Chavira Zúñiga, M. A., Froto Madariaga, M. L. & Clamont Montfort, G. R. (2007). Higiene en instalaciones y manipulación de alimentos en ocho orfanatos del municipio de Torreón, Coahuila (México). *Mediagraphic*, 8(1), 1-10.
- Cabrera Díaz, E., Ascencio Anguiano, A. I., Segura García, L. E., Pérez Covarrubias, O. B., Orozco García, A. G., Varela Hernández, J. J. & González González, G. (2020). Impacto de fallas en las buenas prácticas de manufactura en la producción de carne molida de res en carnicerías de tres municipios de la zona metropolitana de Guadalajara. *e-CUCBA*, 14(7), 55-67. <https://doi.org/10.32870/e-cucba.voi14.170>
- Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable [CEDRSSA] (2019, julio). *La importancia de la industria avícola en México*. Palacio Legislativo de San Lázaro, Ciudad de México. Cámara de Diputados.
- Cruz, A. (2013). Las buenas prácticas de higiene y manipulación como elemento básico del sistema de gestión de calidad e inocuidad de los alimentos. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 23(1), 21-31. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1754.2009.01567.x>

- Espinosa Manfugás, J. M. (2014). Higiene alimentaria, una necesidad en las instalaciones turísticas que brindan servicio de alimentos y bebidas. *Revista Caribeña de Ciencias Sociales*, 6(1), 1-7.
- García Durán, C. & Juárez González, C. (2013). *Capacitación en el manejo higiénico de alimentos al personal de un servicio de alimentación colectivo a través del distintivo H* [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México]. Repositorio Institucional de la Universidad Autónoma del Estado de México. <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/14235/402749.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Izquierdo Idrovo, M. F. & Arce Vera, L. (2016). *Diagnóstico inicial de la presencia de plagas asociadas a la pérdida de inocuidad alimentaria y su propuesta para la implementación de un manejo integrado de plagas en el mercado de la ciudad de Sig sig* [Tesis de maestría, Universidad de Azuay]. Repositorio Institucional de la Universidad de Azuay. <https://dspace.uazuay.edu.ec/handle/datos/6140>
- Ramírez Hernández, A. (2018). *Implementación de un sistema de control de inventarios por medio del método primeras entradas primeras salidas (PEPS) en la empresa Comercializadora de Porcinos Mirasol s.a. de c.v* [Tesis de licenciatura, Universidad Abierta y a Distancia de México]. Repositorio Institucional de la Universidad Abierta y a Distancia de México. http://www.repositorio.unadmexico.mx/xmlui/bitstream/handle/123456789/288/GPT_ES1410904014.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Ruiz, M. J., Padola, N. L., Leotta, G., Collello, R., Passucci, J., Rodríguez, E., Fernández Fellenz, D., Krüger, A., Sanz, M., Elichiribehety, E. & Etcheverría, A. I. (2021). Calidad microbiológica de la carne picada y detección de patógenos en muestras ambientales de carnicerías de la ciudad de Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 54(3), 215-219. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.04.003>
- Secretaría de Salud (2009). *NORMA Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios*. <https://www.dof.gob.mx/normasOficiales/3980/salud/salud.htm>
- Villanueva Martínez, S., Macía Hernández, A. E., De la Torre Rosas, A. & Polanco González, C. (2014). Evaluación de políticas en manejo de alimentos para prevenir infecciones nosocomiales en hospitales generales de instituciones públicas de salud en México. *Gaceta Médica de México*, 150(4), 304-310.

Tratamiento alcalino de lodos rojos acidificados de bauxita para la elaboración de material cerámico

Sandra Patricia REYES ORTIZ

Resumen

El proceso de obtención de sulfato de aluminio a partir de la digestión ácida de bauxita (B) produce altas descargas de lodos acidificados ($\text{pH} < 4.0$) en las lagunas de decantación. Los lodos rojos acidificados (LR) son subproductos del proceso que se componen de sílice (48 %), alúmina (24 %), sulfatos (16 %) y óxidos de hierro (7 %). La determinación de la textura de los lodos por método de Bouyoucos fue interferida por la rápida decantación de este (<20 minutos), debido a la acción de coagulante remanente en los residuos. Los lodos rojos ácidos contienen óxido de hierro, partículas de polvo negro que fueron retiradas por medio de imanes. Se realizaron múltiples lavados de los LR con agua destilada para extraer el remante de sulfato de aluminio y de magnetita y realizar el proceso de alcalinización usando hidróxido de sodio e hidróxido de calcio. Los lodos alcalinizados con pH entre 9-10 (LR-t) fueron mezclados con arcilla natural de la ciudad de Villavicencio (v) para elaborar pequeñas muestras calcinadas a 900 °C. El índice de plasticidad de los lodos rojos alcalinizados es clasificado como medio, y su contracción es moderada. La cocción de probetas constituidas con solo lodos alcalinizados generaba productos frágiles y de baja resistencia a la absorción de agua. Sin embargo, la adición de arcillas de la región permitió la elaboración de probetas que cumplieran con las propiedades de contracción y de estabilidad higroscópica para su uso en

• Profesora Investigadora Colombiana titulada en Química Pura de la Universidad Nacional de Colombia. Doctorado en ciencia y tecnología de los materiales en la Universidad de Federal da Paraíba (Brasil). Ha desarrollado proyectos en el área de aprovechamiento de residuos agroindustriales y mineros en la fabricación de nuevos materiales de construcción. También, ha realizado aportes importantes en la preservación del bambú mediante la impregnación con polímeros y ha producido cementos alcalinos a partir de cenizas de palma africana y vidrio para la elaboración de baldosas decorativas. Actualmente, trabaja en la Universidad Cooperativa de Colombia generando nuevos materiales no convencionales.

materiales cerámicos o elementos de mampostería; con esto se convierten en una alternativa para la reducción del impacto ambiental generado por las empresas de ese sector de producción.

Palabras clave: Bauxita, digestión ácida, lodos rojos ácidos, neutralización, mampostería, alcalinización de lodos.

Introducción

La bauxita es un mineral compuesto principalmente de óxidos de aluminio, sílice, hierro, titanio y aluminosilicatos. El hidróxido de aluminio se presenta en este mineral en diferentes conformaciones mineralógicas, como gibsita, boemita y diáspero. Las aplicaciones industriales de la bauxita dependen de su composición química. Sin embargo, más de 90 % de su producción mundial es utilizada en la obtención de alúmina (Pascoal & Pandolfelli, 2000) y en la producción de sulfato de aluminio por vía ácida (Velásquez & Martínez, 2014).

El sulfato de aluminio “ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ” es una sal usada como agente coagulante y floculante en el tratamiento primario de aguas potable, aguas residuales y en el uso de piscina. Esta sal puede agrupar los sólidos suspendidos en el agua y acelerar la sedimentación de estas partículas debido a las cargas electrostáticas de sus moléculas. Además, el sulfato disminuye la carga bacteriana y actúa en la remoción del color y sabor del líquido (Jiménez Andrango & Medina de la Torre, 2017).

La turbidez del agua es un parámetro relevante para la aplicación de sulfato de aluminio como coagulante en el tratamiento del agua. En muestras con valores de turbidez en el rango de 15-950 NTU (*Nephelometric Turbidity Unit*) se ha recomendado adicionar entre 22-90 mg/L de sulfato de aluminio hidratado (Barajas Garzón & León Luque, 2015), lo que implica un valor máximo de 90 gramos (g) de sulfato por cada metro cúbico de agua a tratar. Entonces, si cada persona consumiera 100 litros de agua al día, en un país como Colombia, con 51 millones de habitantes, el consumo de agua aproximado sería de 5 millones de m³ /día, lo que demandaría diariamente un consumo mínimo de 110 toneladas de sulfato de aluminio.

En el proceso industrial de la bauxita, por vía alcalina o ácida, se generan residuos o lodos que son depositados en el ambiente y frecuentemente

dispuestos en lagunas proyectadas para este fin (Racanelli et al., 2020). El lodo rojo es el residuo de fracción fina que queda después de la extracción de aluminio de la bauxita. La composición del lodo rojo varía dependiendo de la calidad del mineral y los métodos de procesamiento. El agua en contacto con el barro rojo proveniente del proceso por digestión alcalina (método Bayer) es salina entre 1.4 y 28.4 mS/m (miliSiemens/metro) y altamente alcalina, hasta pH 13 (Lockwood et al., 2014). Por otro lado, el tratamiento de la bauxita por digestión con ácido sulfúrico a 98 % para producir sulfato de aluminio tipo B puede generar aproximadamente 25 % de residuo (Velásquez & Martínez, 2014) y generar lodos rojos con pH<4.0.

Los lodos rojos se componen principalmente de óxidos de hierro, titanio, aluminio, silicio, calcio, magnesio y otros compuestos menores. Mineralógicamente, se encuentran constituidos por rutilo, hematita, magnetita, ilmenita y trazas de sodalita (Folgoso Novoa et al., 2015), características que le permiten su aplicación en la fabricación de cementos belíticos, su uso como catalizador en reacciones químicas, en procesos de depuración de aguas y como neutralizador de suelos, entre otros (Alexander & Moreno, 2019).

Los procesos industriales de extracción de aluminio a partir de bauxita generan grandes cantidades de residuos que provocan subsecuentes impactos ambientales. La afectación negativa de la industria sobre el ambiente ha inducido a la búsqueda de sistemas de reparación de las cadenas productivas donde se planteen alternativas para dar valor a dichos residuos. Por lo anterior, este trabajo presenta una alternativa para el aprovechamiento de los lodos rojos acidificados generados como subproducto de la digestión de bauxita con ácido sulfúrico para la obtención de sulfato de aluminio tipo B. La investigación se centra en el análisis de las propiedades del lodo rojo, mecanismo de neutralización y posibles usos.

Metodología

Caracterización del lodo rojo acidificado

Secado del lodo

La empresa productora del sulfato de aluminio por vía ácida proporcionó las muestras de mineral bauxita (B) y de residuos o lodos rojos (LR) re-

colectados de diferentes sectores de la laguna de disposición de residuos (LR1, LR2 y LR3). Con los lodos se conformó una muestra compuesta. Las muestras se mezclaron manualmente por medio de paletas metálicas durante 2 horas para lograr la homogenización. Luego, se almacenaron y rotularon manteniendo la humedad natural. Se tomaron 100 g de lodos rojos acidificados y se secaron en una estufa a ± 105 °C por 24 horas para determinar el contenido de humedad natural. Una muestra representativa de 5 kilogramos de lodos se secó a ± 105 °C hasta obtener peso constante. Las muestras secas fueron molidas y pasadas por tamiz No 50, con el fin de eliminar fibras plásticas y otras impurezas presentes antes de su almacenamiento. A partir de las muestras molidas se realizaron análisis de color, pH, salinidad, capacidad de intercambio catiónico y textura por método de Bouyoucos aplicando las normas técnicas colombianas referidas para suelos.

Análisis mineralógico por difracción de rayos x (DRX)

En el difractómetro de rayos x (marca PANalytical modelo X' PERT PRO MPD) se midieron las muestras en una configuración óptica de Bragg–Brentano con un detector de estado sólido de alta velocidad para la adquisición de datos denominado PIXcel y con un tubo generador de rayos x con ánodo de cobre (longitud de onda de 1.54 Å). Luego, se determinaron las estructuras cristalográficas por medio del software xpert Highscore plus, y la lista de minerales se ajustaron a partir del análisis de perfil de líneas con los establecidos en la biblioteca del programa.

Análisis por fluorescencia de rayos x (FRX)

Las muestras en polvo, secadas y tamizadas por tamiz no 100, fueron usadas para elaborar pastillas de 37 mm de diámetro, sobre las cuales se realizaron las medidas en el espectrómetro de fluorescencia de rayos x; MagixPro PW-2440 Philips (WDXRF) equipado con un tubo de rodio, con potencia máxima de 4 kW. La sensibilidad del equipo era de 100 ppm en la detección de elementos pesados metálicos. Se excluyó la lectura de H, C, Li, Be, B, N, O y los elementos transuránicos.

Neutralización del lodo rojo acidificado

Tratamiento alcalino con hidróxido de sodio

Una muestra de 100 g de lodos rojo acidificado, seco y tamizado fue hidratado con 40 g de agua, agitada fuertemente con una espátula y dejada en hidratación por 1 hora. La pasta fue mezclada con adiciones de 5 ml de solución de hidróxido de sodio al 5 % para tomar medidas de variación de pH con el potenciómetro de electrodo marca Schott. La mezcla era homogenizada luego de cada adición del agente alcalino, para realizar la lectura de pH. Con los resultados obtenidos de la alcalinización en medio húmedo, se determinaron posteriormente las cantidades del agente alcalino en sólido para realizar la neutralización en seco.

Tratamiento alcalino con óxido de calcio (cal)

Se repitió la metodología aplicada para el tratamiento con hidróxido de sodio.

Determinación del límite plástico, límite líquido e índice de plasticidad

Se calculó el límite de plasticidad de las muestras de lodo rojo alcalinizadas con hidróxido de calcio. La determinación del límite plástico se realizó aplicando la norma INV. E 126-13. Se elaboraron manualmente rollos de 3 mm de diámetro que se amasaban y se enrollaban de nuevo hasta lograr el desmoronamiento de la muestra al elaborarse el rollo. Los pedazos se recolectaron y secaron para determinar el contenido gravimétrico de agua.

El límite líquido de las muestras de lodo se determinó a partir de 150 g de lodos seco y pasados por tamiz No 40. Se preparó una pasta de consistencia que permitiera lograr el cierre de la ranura realizada sobre la muestra ubicada en la cuchara de Casagrande usando entre 25-35 golpes, aplicando caída de la cazuela de 10 mm. Por último, se determinó la cantidad de humedad en la muestra, y se relacionaba la cantidad de golpes aplicados.

El índice de plasticidad se determinó a partir de la diferencia entre el límite líquido y el límite plástico.

Elaboración de materiales cerámicos

Fabricación de probetas

La neutralización con cal comercial se realizó sobre la muestra de lodo fresco. La alcalinización se detuvo entre pH 9-10. La cantidad requerida para alcalinizar fue de 25 g de cal sólida/kg de lodo rojo ácido. Se elaboraron mezclas usando el lodo alcalinizado con cal y la arcilla de la ciudad de Villavicencio. Esta última ya ha sido estudiada en trabajos anteriores para la fabricación de construcciones con tierra cruda. La proporción de mezcla de la arcilla con los lodos ácidos y alcalinos se mantuvo en relación 1:1 peso:peso. Se realizó la determinación del límite de Atterberg de acuerdo con la norma NTC 4630 para las muestras de bauxita (B), lodo rojo ácido (LA), lodo rojo alcalinizado con cal (LR-T), arcilla de Villavicencio (v).

El secado verde se llevó a cabo a temperatura ambiente por 24 horas y en horno a 100 °C por 3 horas. La calcinación se realizó en mufla durante 60 minutos a 900 °C. Se debe tener en cuenta el desprendimiento de vapores azufrados provenientes del remanente de sulfatos presentes en los lodos. Los pequeños cuerpos de prueba no se extrusaron, solo se moldearon a presión.

Las pequeñas muestras fueron medidas y pesadas antes y después de cada proceso de secado. También se determinó el porcentaje de contracción usando inmersión en mercurio y se estableció la absorción de humedad de acuerdo con la norma NTC 4205.

Resultados y discusión

Caracterización de las muestras de bauxita y lodo rojo acidificado

Las muestras de lodo presentan un olor fuerte, característico del aluminio metálico. En la figura 1 se pueden observar las diferencias de color de las muestras de lodos húmedas y secas comparadas con la bauxita natural. Los lodos húmedos presentan colores rojo-marrón, y los lodos secos exhiben colores amarillos, característica relacionada con las reacciones de hidratación de las diferentes especies que lo componen, en especial debido a los óxidos de metales de transición.

Figura 1. Muestras de lodos rojos recolectados en la laguna de disposición final de residuos del proceso de acidificación de bauxita



Ilustración propia.

Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de la bauxita y de los lodos rojos residuales recolectados del proceso de extracción de sulfato de aluminio tipo B

Propiedad	Bauxita	LR-Húmedo	LR-Seco
Color	2.5YR4/10	7,5YR4/2	10YR5/6
Humedad (%)	28.7	54.7	9.0
pH	6.37	3.17	ND
Conductividad (dS/m)	0.89	12.46	ND
CIC (meq/100g)	ND	2.1	ND

Elaboración propia.

Los colores correspondientes a las muestras de bauxita y de los lodos residuales húmedos y secos reportan colores diferenciables en tonalidades que inicia en el tono naranja medio oscuro en la muestra de bauxita natural, y luego, con la digestión ácida los lodos húmedos exhiben colores amarillo rojizos en tonalidad marrón, que con el secado terminan en tona-

lidades más amarillas (tabla 1). La goetita es uno de los minerales que más aporta al color rojizo del lodo residual. Por tanto, la pérdida de elementos como el hierro y manganeso podrían generar el viraje de color hacia tonalidades marrón claros.

El pH de la muestra de bauxita natural es levemente ácido (tabla 1). Los lodos rojos, al provenir del proceso de extracción con ácido sulfúrico, mantienen una alta acidez, pH menores a 4.0. Los lodos rojos presentan alta conductividad eléctrica, lo que indica una salinidad fuerte, es decir, alta formación de iones en las mezclas hidratadas. Sin embargo, el intercambio catiónico de los lodos es bajo. Son deficientes en la retención de iones positivos, lo que desfavorece su uso como fertilizantes en el área agrícola.

Las muestras secas fueron analizadas de acuerdo con el método de Bouyoucos con el fin de determinar la textura de los lodos rojos. Aunque se siguió el protocolo de acuerdo con la norma colombiana vigente, luego de la agitación mecánica de las suspensiones de lodos, al colocar la muestra en la probeta con el higrómetro, se observó un rápido arrastre de las partículas en menos de 15 minutos (figura 2). Tras repetir los ensayos anteriores por triplicado, se realizaron tres lavados con agua destilada a una muestra de 25 g de los lodos rojos. Las extracciones obtenidas del lavado del lodo rojo seco generaron una solución amarilla con pH de 4.0. La solución extraída se secó en estufa a 100 °C, con lo que se obtuvo 10.6 % de sólido amarillo.

Figura 2. Imagen del ensayo de Bouyoucos realizado por triplicado para determinar la textura del lodo rojo



Imagen propia.

Figura 3. Recolección de magnetita a partir de las muestras decantadas provenientes del ensayo de Bouyoucos



Imagen propia.

Las muestras decantadas provenientes del ensayo de textura fueron lavadas con agua destilada por triplicado. Luego, por flotación se logró la separación de partículas de mineral negro que presentaba propiedades magnéticas, magnetita (figura 3). Aunque se realizaron nuevamente tres lavados a los lodos separados, se realizó nuevamente el análisis de textura, pero persistió la rápida decantación de las partículas. Teniendo en cuenta los resultados descritos, se infiere que las muestras de lodo contienen sulfato de aluminio remanente, el cual actúa como agente coagulante y sedimentador de los propios lodos.

La bauxita presenta altos contenidos de aluminio, hierro, silicio y un valor representativo de titanio de acuerdo con los resultados extraídos del análisis por fluorescencia de rayos x (FRX), los cuales se presentan en la tabla 2. El proceso de digestión ácida del mineral con ácido sulfúrico causa la pérdida de aluminio, elemento transformado en sulfato de aluminio y aumenta la concentración de azufre en los lodos rojos. Como resultado del proceso industrial, también se incrementa la composición porcentual de silicio y titanio, pero se disminuye la concentración de hierro.

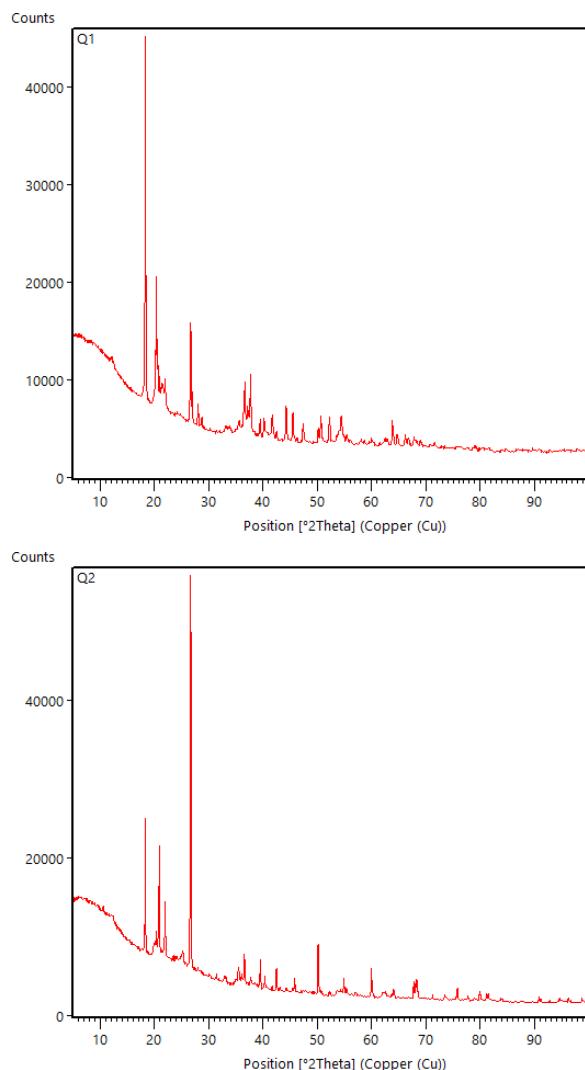
Tabla 2. Composición química de los elementos representativos presentes en la bauxita y lodo rojo obtenida por análisis de fluorescencia de rayos X (FRX)

Elemento	Bauxita (%)	Lodo rojo (%)
Aluminio	49.42	19.86
Hierro	25.68	8.20
Silicio	20.70	44.79
Titanio	3.05	4.51
Calcio	0.15	0.11
Cloro	0.02	0.2
Azufre	0.44	21.58

Elaboración propia.

El análisis de difracción de rayos x (DRX) permitió identificar las estructuras mineralógicas concordantes con los elementos químicos determinados por FRX que se encontraron en las muestras de bauxita y lodo rojo (figura 4). Los análisis de los difractogramas se realizaron por medio del software xpert Highscore plus. En las tablas 3 y 4 se presentan las fases cristalinas más representativas para cada uno de los elementos identificados por FRX en las muestras de bauxita y lodo rojo, tomando como parámetro de revisión el factor RIR. Las estructuras cristalográficas se ajustaron comparando el análisis de perfil de líneas de los difractogramas con los establecidos en la biblioteca del software. Fases cristalinas de la goetita y la gibsita dejan de ser representativos en las muestras acidificadas, lo que concuerda con los análisis de cambio de color del mineral bauxita durante el proceso industrial. Es importante remarcar la presencia de titanio en las muestras de lodo rojo, ya que este elemento incide en las propiedades de resistencia mecánica de los materiales de construcción que lo contienen.

Figura 4. Difractogramas del mineral de bauxita y del lodo rojo obtenido por análisis de difracción de rayos X



Elaboración propia.

Tratamiento alcalino de lodos rojos acidificados de bauxita para la elaboración
de material cerámico

Tabla 3. Correlación de las fases cristalinas obtenidas por análisis DRX con el elemento químico obtenido por análisis FRX en la muestra de bauxita

Elemento	Fases cristalinas	Densidad	RIR
Aluminio	Gibrita	2,35	1,97
	Berlinita	3,98	1,73
	Pentaoxititanato de aluminio	3,7	1,63
	Caolinita	2,56	1,18
Hierro	Oxohidróxido de hierro	4,5	3,12
	Montroseita	4,05	2,56
	Goetita	4,31	2,48
	Magnetita	5,68	5,22
Silicio	óxido de sílice	2,65	3,41
	Cuarzo	2,65	3,15
	Zirconio	4,65	5,1
	Cristobalita	2,17	6,41
Titanio	Pentaoxititanato de aluminio	3,7	1,63
	Rutile	4,22	3,6
Azufre	Sulfuro de bario y vanadio (IV)	4,3	10,77
	Azufre	2,97	20,26

Elaboración propia.

Tabla 4. Correlación de las fases cristalinas obtenida por análisis DRX con el elemento químico obtenido por análisis FRX en la muestra de lodo rojo

Elemento	Fases cristalinas	Densidad	RIR
Silicio	óxido de silicio	2,65	3,41
	Cristobalita	2,32	5,13
	Cuarzo	3,91	5,86
Azufre	Azufre	2,12	1,06

Aluminio	Berlinita	3,98	1,73
	Caolinita	2,56	1,18
Hierro	Limenita	4,91	2,94
	Magnetita	5,21	5,05
	Hematita	5,27	4,23
	Magnesioferrita	4,46	4,19
Titanio	Titanomagnetite	5,01	4,74
	Anatase	3,81	4,92
	Candilita	3,51	2,32
	Rutile	4,23	3,68

Elaboración propia.

Proceso de alcalinización del lodo rojo ácido

Los lodos rojos ácidos fueron alcalinizados por medio de dos tratamientos alcalinos. El primero consistió en adicionar proporciones de solución de hidróxido de sodio al 5 %, y el segundo, con la aplicación de una solución de hidróxido de calcio de la misma concentración. Las gráficas de alcalinización muestran diferencias en la velocidad de reacción (representada por la tangente de la curva). La reacción de los lodos rojos con hidróxido de sodio muestra una pendiente mayor que la generada con la adición del hidróxido de calcio.

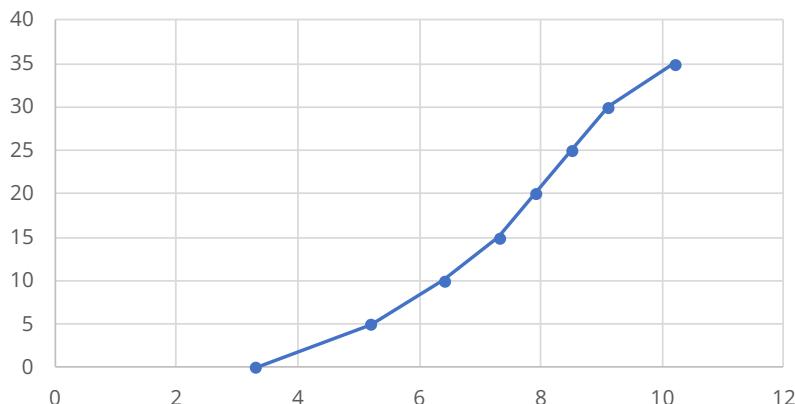
En la figura 5 se presentan las curvas de alcalinización de los lodos rojos con hidróxido de sodio. El valor de pH 9.0 se obtuvo usando 30 ml de la solución al 5 %, lo que es equivalente a la aplicación de 1.5 g de hidróxido de sodio sólido para una muestra de 100 g de lodo rojo hidratado. Aunque se logra la alcalinización del lodo rojo con hidróxido de sodio, no se eligió este producto por su mayor carácter oxidante y por el costo del tratamiento.

En la figura 6 se observa la variación del pH al adicionar el hidróxido de calcio al 5 %. La cantidad necesaria de óxido de calcio sólido calculado a partir del gráfico para alcalinizar 100 g de lodo rojo a pH 9.0 es de 2.5 g de cal. Por tanto, para lograr la alcalinización de una tonelada de lodo rojo se requieren 25 kg del agente alcalino. Si el precio por kilogramo de

cal fuese de 2 dólares, el tratamiento de alcalinización de una tonelada de lodo rojo costaría aproximadamente 50 dólares. Sin embargo, es necesario ajustar el valor a las condiciones de la empresa, teniendo en cuenta el nivel de pluviosidad sobre la piscina, las lixiviaciones, la cantidad de agua de lavados, otra clase de residuos presentes en los lodos, entre otros.

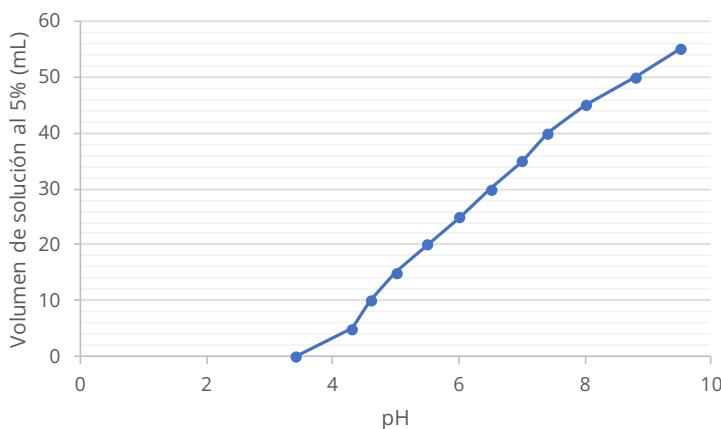
El ion calcio es un componente desgrasante de las arcillas usadas en elementos de mampostería. La presencia de calcio modifica el color impartido por el hierro. Sin embargo, las manchas blancas en los compuestos que contienen bajas cantidades de carbonato de calcio podrían generar hinchamiento al absorber humedad del ambiente. El ion sodio o el calcio son intercambiables, así que, durante la cocción permiten que otros fundentes ingresen en los espacios vacíos. El índice de plasticidad y curva de secado se ve afectado de forma diferente por cada uno de los iones. Con el ion sodio el secado es más lento, pero puede existir mayor hinchamiento (Zea Osorio, 2005).

Figura 5. Curva de alcalinización del lodo rojo usando solución de hidróxido de sodio al 5 %



Elaboración propia.

Figura 6. Curva de alcalinización del lodo rojo usando solución de hidróxido de calcio al 5 %



Elaboración propia.

Se seleccionó como valor de alcalinización el pH 9.0 debido a que, en ensayos previos, con valores menores de pH, las muestras terminaban generando eflorescencia durante el secado verde, el cual se entiende como el secado de la muestra a temperatura ambiente (figura 7).

El tratamiento del lodo rojo ácido húmedo, es decir, de la muestra tomada de la laguna de vertimiento de residuos, requiere de agitación fuerte y constante para hidratar y homogenizar las adiciones de la cal sólida (oxido de calcio). En este trabajo se utilizaron espátulas anchas con el fin de tener un buen control de mezcla. La falta de homogenización de las muestras generaba puntos blancos en los productos finales. Se propone la alcalinización con el agente alcalino en seco para evitar el consumo de agua y aprovechar la humedad natural de los residuos.

El comportamiento inicial de las muestras alcalinizadas con cal se estudió a partir de la elaboración de pequeños cubos, los cuales fueron amasados adicionando la cantidad de agua suficiente para tener una pasta plástica y permitir la trabajabilidad. También, se realizaron ensayos previos cualitativos con bauxita natural adicionada con lodos, sin y con tratamiento alcalino con hidróxido de calcio. Los cuerpos de prueba presen-

taron manchas blancas asociadas a eflorescencias, aparición de cristales de sales en la superficie de la muestra causadas por el hidróxido de calcio.

Figura 7. Muestras calcinadas a 900 °C usando lodo rojo residual ácido (7), lodo rojo alcalinizado con solución de cal al 5 % (13), lodo rojo ácido mezclado con bauxita (9, 11 y 12) y lodo rojo alcalinizado mezclado con bauxita (8 y 10)



Imagen propia.

Los límites de Atterberg, referidos como el límite líquido, límite plástico e índice de plasticidad de las muestras, se presentan en la tabla 5. El índice de plasticidad determinado a partir de los resultados del límite líquido y el límite plástico de las muestras alcalinizadas se proyectaron sobre el diagrama de Casagrande (figura. 8) para determinar la plasticidad de las mezclas.

Como resultado, se obtuvo que la bauxita natural presenta una plasticidad alta, la cual se pierde al realizarse el proceso de digestión ácida con ácido sulfúrico. El lodo rojo tratado con cal presentó un comportamiento más plástico con la alcalinización. Las muestras presentaron consistencia limosa de mediana plasticidad. La arcilla de Villavicencio se referenció como una arcilla de mediana plasticidad, lo que la categoriza como medianamente moldeable en términos de trabajabilidad.

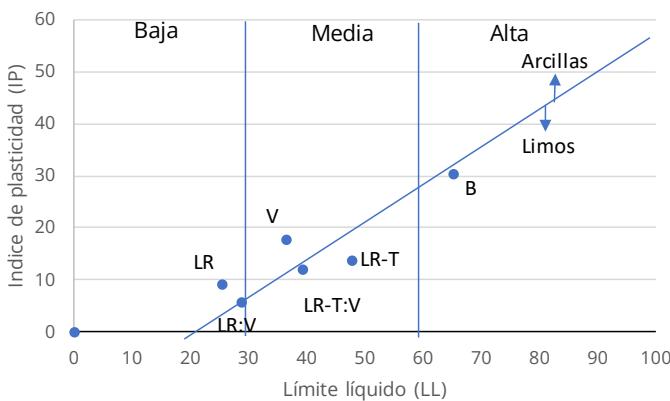
El contenido remanente de sulfato de aluminio en las muestras de lodo rojo ácido no permitió la determinación de la textura. Por tanto, no se logró determinar las fracciones de arcilla, limo y arena presentes en las muestras. Estos porcentajes resultado del ensayo de textura por método de Bouyoucos se podrían utilizar para proyectar su aplicación como material cerámico al ubicar los porcentajes sobre el triángulo de Winkler (García-León et al. 2018).

Tabla 5. Límites de Atterberg de las muestras de bauxita, lodo rojo ácido, lodo rojo tratado con cal y arcilla de Villavicencio

Muestra	LL	LP	IP	Plasticidad
B	63.35	33.27	30.08	Alta
LR	28.13	22.14	5.99	Baja
LR-T	47.2	32.23	14.65	Media
V	36.60	20.52	16.08	Media
LR-T:V (50:50)	40.25	27.92	12.33	Media
LR:V (50:50)	24.64	33.2	8.56	Baja

Elaboración propia.

Figura 8. Ubicación de las muestras de bauxita, lodo rojo ácido, lodo rojo tratado con cal y arcilla de Villavicencio, en el diagrama de Casagrande



Elaboración propia.

Elaboración y caracterización del material cerámico

El lodo rojo residual (LR) del proceso de digestión de la bauxita con ácido sulfúrico fue moldeado en pequeños cubos. La cantidad de agua requerida para la humectación del lodo seco, molido y tamizado por malla No 10 se calculó teniendo en cuenta la consistencia de la pasta obtenida y la traba-

jabilidad. De esta manera, también se determinó el volumen de agua para moldear la bauxita (B), lodo rojo tratado con óxido de calcio (LR-T), y las mezclas en proporciones iguales de arcilla de Villavicencio (v) con lodo ácido y la arcilla con lodo alcalino (tabla 6).

La mezcla entre bauxita y lodo rojo, tanto ácido como alcalino; se descartó de los análisis debido a que, en los ensayos previos, los cuerpos de prueba obtenidos no presentaban resistencia a la absorción de agua, y además, las muestras calcinadas se destruían fácilmente al ejercer presión con los dedos.

Tabla 6. Cantidad de agua requerida para humectar las muestras concediendo buena trabajabilidad a la pasta resultante

Muestra	Agua (ml)	Agua (%)
B	9.2	15.3
LR	16.1	26.8
LR-T:V (50:50)	13.5	22.5
LR:V (50:50)	14.7	24.5

Elaboración propia.

Las muestras que contienen lodos residuales ácidos presentan mayor contenido de humedad, tanto en fresco como al finalizar la calcinación. La adición de arcilla al lodo rojo alcalinizado disminuye la absorción de agua en comparación con las muestras de lodo rojo ácido sin tratamiento químico. La alcalinización del lodo también disminuye la retracción de las probetas calcinadas (tabla 7). La arcilla de Villavicencio presentó óptimos valores de secado y contracción para su aplicación en la elaboración de materiales de mampostería.

Tabla 7. Resultados de secado a temperatura ambiente, secado por cocción a 900 °C y retracción de la muestra posterior al proceso de calcinación

Muestras	Secado ambiente (%)	Secado calcinación (%)	Retracción final (%)
B	11,7	19,6	5,7
RL	18,7	33,7	9,8

RL-T	14,3	12,4	6,9
V	12,6	23,2	3,6
LR:V (50:50)	16,6	34,3	8,9
LR-T:V (50:50)	10,6	21,0	7,1

Elaboración propia.

El comportamiento hidrofílico de las muestras calcinadas se determinó con el ensayo de absorción de agua. Las muestras elaboradas solo con bauxita mineral y las muestras fabricadas solo con lodo rojo ácido, presentaron deformación total al contacto con el agua (figura 9). La muestra elaborada a partir bauxita mineral y lodo rojo alcalinizado permaneció inalterada durante las 24 horas del ensayo, pero al hacer presión con los dedos, finalmente de desmoronó.

Figura 9. Imágenes del seguimiento a la descomposición de las muestras calcinadas sumergidas en agua por 24 horas



Imagen propia.

El seguimiento a la absorción de agua por 24 horas se realizó sobre las probetas elaboradas con lodo rojo ácido y arcilla Villavicencio y sobre las conformadas por mezcla de lodo rojo alcalinizado y arcilla Villavicencio, cada una de las mezclas en proporción 50:50 en peso. En general, la alcalinización del lodo permite obtener mejores propiedades hidrofóbicas. Las probetas calcinadas usando el lodo tratado no se deformaron durante las

24 horas de inmersión y soportaron el secado en horno a 100 °C. Al prensar las muestras con los dedos no se desmorona. El color de la muestra es salmón rojizo, llamativo para el uso en diseño arquitectónico. No se evidencia eflorescencia ni manchas blancas sobre las probetas. En general, se puede indicar que las muestras de lodo rojo alcalinizado al mezclarse con arcillas con características apropiadas para el uso en mampostería pueden generar un producto útil en la industria cerámica y contribuir de esa manera en la disminución de la afectación negativa sobre el medio ambiente.

Figura 10. Imagen de seguimiento de descomposición en agua de probetas elaboradas en proporción 50:50 de lodo rojo ácido:arcilla V y probetas de lodo rojo alcalino: arcilla V



Elaboración propia.

Conclusiones

Los lodos rojos presentan $\text{pH} < 3,0$ y un factor de decantación alto debido a los residuos remanentes de sulfato de aluminio. Teniendo en cuenta el aprovechamiento que se pueda dar a este subproducto, se sugiere la construcción de una piscina de lavados de los lodos salientes y generar el

reciclaje del agua al proceso, con el fin de aprovechar el ácido presente y de extraer el sulfato que se encuentra en exceso.

La alcalinización de los lodos rojos acidificados usando solución de hidróxido de sodio fue analizada para su aplicación en la fabricación de materiales cocidos en mufla. No obstante, los resultados mostraron la inestabilidad a la presión y a la absorción de agua.

La alcalinización del lodo rojo es posible usando cal en concentración de 25 g/kg de lodo rojo ácido. La calcinación de las muestras a 900 °C del lodo rojo alcalinizado mostró que mejora las características del lodo rojo ácido pero que requiere de una arcilla con características óptimas para su aplicación en elementos cerámicos o de mampostería. La adición de la arcilla Villavicencio en proporción igual a la cantidad de lodo alcalinizado permitió obtener probetas que no destiñen, no produce eflorescencia ni sufren deformación significativa al sumergirlas en agua. Tampoco aparecen fisuras ni se explotan durante el proceso de cocción.

Es necesario que las empresas que generan estos residuos ensayan los procesos de alcalinización con fin de dar aplicación a esas grandes cantidades de subproducto y mitiguen el efecto nocivo sobre el ambiente.

Referencias

- Alexander, J. & Moreno, P. (2019). *Valorización de lodos de aguas residuales provenientes de la industria de aluminio* (Tesis de maestría). Universidad de los Andes. <http://hdl.handle.net/1992/44285>
- Barajas Garzón, C. L. & León Luque, A. J. (2015). *Determinación de la dosis óptima de sulfato de aluminio ($al_2(so_4)_3 \cdot 18h_2O$) en el proceso de coagulación-floculación para el tratamiento de agua potable por medio del uso de una red neuronal artificial* (Tesis de ingeniería). Universidad Santo Tomás. <https://hdl.handle.net/11634/2916>
- Folgoso Novoa, J., Rodríguez Barro, P. & Herrero, R. (2015). *Utilización de lodos rojos como adsorbentes*. [trabajo de grado, Universidade da Coruña. Facultade de Ciencias]. https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/14828/FolgosoNovoa_Javier_TFG_2015.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- García-León, R. A., Solano, E. F. & Castilla, M. R. (2018). Diseño de mezclas para la fabricación de productos de mampostería en la industria cerámica. *Revista Politécnica*, 14(26), 19-28.

- Jiménez Andrango, T. C. & Medina de la Torre, J. T. (2017). *Influencia de la disolución del sulfato de aluminio en la eficiencia de la coagulación en la potabilización del agua* [tesis de licenciatura, Escuela Politécnica Nacional].
- Lockwood, C. L., Mortimer, R. J. G., Stewart, D. I., Mayes, W. M., Peacock, C. L., Polya, D. A., Lythgoe, P. R., Lehoux, A. P., Gruiz, K. & Burke, I. T. (2014). Mobilisation of arsenic from bauxite residue (red mud) affected soils: Effect of pH and redox conditions. *Applied Geochemistry*, 51, 286-277. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2014.10.009>
- Pascoal, C. & Pandolfelli, V. C. (2000). Bauxitas refratárias: composição química, fases e propriedades—Parte I. *Cerâmica*, 46(298). <https://doi.org/10.1590/s0366-69132000000200005>
- Racanelli, L. de A., Oliveira, R. C. de, Brito, W. da S. & Souza, J. A. da S. (2020). Uso de rejeito de lavagem de bauxita para a fabricação de ligantes geopoliméricos. *Revista Matéria*, 25(1). <https://doi.org/10.1590/s1517-707620200001.0921>
- Velásquez, V. & Martínez, V. (2014). *Diseño conceptual de una planta para la producción de sulfato de aluminio a partir de bauxita* [tesis de ingeniería, Universidad EAFIT]. Repositorio Institucional Universidad EAFIT. <http://hdl.handle.net/10784/5392>
- Zea Osorio, N. L. (2005). *Caracterización de las arcillas para la fabricación de ladrillos artesanales* [tesis, Universidad de San Carlos de Guatemala]. Biblioteca Central de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Potencial en síntesis orgánica de las lipasas de *Litopenaeus vannamei*: un análisis *in silico* e *in vitro*

Ana María Bojórquez SÁNCHEZ·
Lourdes Mariana DÍAZ TENORIO··
Luis Alonso LEYVA SOTO···
Raúl Balam MARTÍNEZ PÉREZ····

Resumen

Los ésteres de ácidos grasos son moléculas con una amplia gama de aplicaciones en la industria. El uso de lipasas (E.C. 3.1.1.3) para síntesis de estos se ha realizado principalmente por fuentes microbianas; sin embargo, la búsqueda de biocatalizadores ha aumentado en los últimos años. Los organismos acuáticos son una fuente interesante de investigar. En el norte de México, el camarón patiblanco (*Litopenaeus vannamei*) es un importante recurso pesquero y acuícola. El principal desecho que se genera a partir del procesamiento de este crustáceo es elcefalotórax, que contiene hepatopáncreas, órgano digestivo y reservorio de enzimas hidrolíticas (proteasas, carbohidrasas y lipasas/esterasas). Debido a lo anterior, el objetivo del presente trabajo es evaluar el potencial en síntesis orgánica de las lipasas/esterasas del hepatopáncreas de *L. vannamei*. Para ello se utilizó 2,2,4-trimetilpentano como solvente de reacción e isobutil alcohol, alcohol olefílico y ácido oleico como reactantes para su esterificación. Se estudió mediante acoplamiento molecular, la interacción de PVL (lipasa digestiva de *L. vannamei*) con isobutil y oleil oleato, y se mostraron afinidades de -5.2 y -5.6 kcal/mol, respectivamente. Mientras tanto, por cro-

· Ingeniero biotecnólogo, Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON). <https://orcid.org/0009-0001-0109-7006> | anam.bojorquez@potros.itson.edu.mx.

·· Doctor en Ciencias en el uso, manejo y preservación de los recursos naturales, ITSON. <https://orcid.org/0000-0002-8941-3965> | lourdes.diaz@itson.edu.mx.

··· Doctor en Ciencias en el uso, manejo y preservación de los recursos naturales, ITSON-Cátedras Conacyt. <https://orcid.org/0000-0002-8101-7925> | luis.leyva@itson.edu.mx.

···· Doctor en Ciencias con especialidad en Biotecnología, ITSON. <https://orcid.org/0000-0001-5152-7695> | raul.martinez@itson.edu.mx.

matografía de capa fina se llevó el monitoreo de los productos de síntesis isobutil oleato y oleil oleato, en el que se observó que las enzimas lipolíticas del camarón, así como la lipasa *b* de *Candida antarctica*, sintetizan dichos ésteres bajo las mismas condiciones de reacción. Por lo tanto, el hepatopáncreas de *L. vannamei*, al mantener activas sus enzimas lipolíticas después de ser desechado, resulta ser una interesante fuente de biocatalizadores para síntesis orgánica de compuestos de interés farmacéutico, cosmético y alimentario.

Palabras clave: *Litopenaeus vannamei*, síntesis orgánica, bioinformática, ésteres de ácidos grasos.

Introducción

Los ésteres de ácidos grasos son moléculas con un sinfín de aplicaciones en la industria (Gandhi et al., 2000). Los ésteres de cadena corta y media son utilizados como fragancia y saborizante (Brault et al., 2014), mientras que ésteres de cadena larga, ramificados y con insaturaciones en la cadena acilo, como los ésteres de oleico (butil oleato, isopropil oleato y oleil oleato), son empleados en cosméticos como emoliente, surfactante, y agente acondicionador y en la industria textil como aditivo en polímeros y plastificantes (U.S. Food and Drug Administration (FDA), 2022; Sakamoto et al., 2017).

La producción de ésteres es realizada principalmente por síntesis química o extracción de fuentes naturales, procesos que requieren elevadas temperaturas y generan subproductos tóxicos. Otra alternativa es por vía enzimática, en el que se utilizan biocatalizadores estables en solventes orgánicos, que presenta alta especificidad de sustrato y en el que se realiza la catálisis a diferentes condiciones de temperatura y pH, con lo que se evita la generación de subproductos (Martins et al., 2014).

Las lipasas (triacilglicerol acilhidrolasas; E.C. 3.1.1.3) son enzimas que catalizan una variedad de reacciones de esterificación en medio no acuoso, como interesterificación, amidación, alcoholisis y transesterificación (Albayati et al., 2020). En la búsqueda de nuevas fuentes de enzimas de menor costo, las lipasas digestivas de crustáceos son candidatos potenciales por sus propiedades catalíticas (Cherif et al., 2007; Zarai et al., 2012).

En el estado de Sonora, uno de los principales recursos pesqueros es el camarón patiblanco (*L. vannamei*), crustáceo con una producción de 65 mil toneladas al año (Reyes, 2020; Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), 2018). El hepatopáncreas de los camarones es un órgano digestivo que se encuentra en elcefalotórax (cabeza), y es desecharido por el sector pesquero puesto que carece de valor comercial. Sin embargo, este es un reservorio de enzimas digestivas (Gibson, 1979).

En *L. vannamei* se han reportado enzimas responsables de la digestión de lípidos como la lipasa digestiva (PVL), capaz de hidrolizar triacilglicéridos (TAGS) de cadena larga (cadena de 12 a 26 carbonos) y cadena corta (cadena de 4 a 6 carbonos) (Rivera-Pérez et al., 2011). Dicha lipasa es estable a temperaturas mayores a su óptima en solventes orgánicos (Maytorena, 2011), y ha sido estudiada en la producción de biodiesel en medios orgánicos (Rakkan et al., 2017).

Esta investigación busca evaluar una fuente alternativa de biocatalizadores de bajo costo para la industria y, a la vez, contribuir con alternativas para el aprovechamiento de un subproducto de la pesca en el norte del país, con la ayuda de herramientas bioinformáticas y experimentales que permitan la caracterización de las lipasas/esterasas del camarón patiblanco.

Metodología

Estudio *in silico*

Obtención de secuencia, construcción y validación de modelo tridimensional

Mediante la plataforma National Center for Biotechnology Information (NCBI) se obtuvo la secuencia de aminoácidos de la lipasa digestiva de *L. vannamei* (GenBank ID: ACU57197.1). Para la construcción de su estructura tridimensional, la secuencia se introdujo en el servidor SWISS-MODEL, y la estructura resultante se visualizó en UCSF chimera (v1.15), con lo que se confirmó que el sitio de enlace al sustrato estuviese descubierto. Posteriormente, la estructura tridimensional se sometió a una evaluación de calidad en PROSA-web (<https://prosa.services.came.sbg.ac.at/prosa.php>),

y en el metaservidor de saves v6.0 (<https://saves.mbi.ucla.edu/>) con las herramientas verify 3D y PROCHECK.

Preparación de ligandos y acoplamiento molecular

En la base de datos Pubchem, se obtuvieron las estructuras de isobutil oleato (Pubchem CID: 6436361) y oleil oleato (pubchem cid: 5364672). A ambas se les realizó una optimización geométrica en Avogadro (1.2.0) y se les añadió el campo de fuerza UFF. El acoplamiento molecular se llevó a cabo en Autodock vina (2.1.1) y en el visualizador PYMOL (1.3.), en el que se determinó un tamaño de caja de 19x19x19 Å (coordenadas de caja: x= 32.22, y= 79.95., z= 23.02) alrededor del sitio activo ser134 (flexible), Asp307 e His338 y con un espaciado de 1 Å.

Para la elección del complejo enzima-sustrato se consideró una distancia menor a 5 Å entre el oxígeno de la serina catalítica y el oxígeno del enlace éster. Finalmente, en el software BIOVIA DISCOVERY STUDIO VISUALIZER 2021 (v21.1.0.20298) se analizaron las interacciones intermoleculares.

Estudio *in vitro*

Obtención de extracto enzimático

Residuos de céfalo-tórax de camarones (*L. vannamei*) fueron recolectados de pesquerías de las costas de Sonora. Las muestras de hepatopáncreas se almacenaron a 0 °C para su transporte al laboratorio y posteriormente para la extracción de hepatopáncreas. Brevemente, este se homogenizó y se centrifugó a 10,000 gramos (g) por 30 minutos (min), a 4 °C. Posteriormente, se traspasó el sobrenadante (500 µL) del extracto a un nuevo tubo y se añadieron 500 µL de isooctano frío (-20 °C). Se generó vortex por 60 segundos (s) de forma intermitente hasta homogenizar, y nuevamente se centrifugó a 10,000 g, por 5 min a 4 °C para separar la fase acuosa y la fase orgánica. La fase orgánica se desechará, mientras que a la fase acuosa (extracto enzimático) se le realizó el mismo tratamiento anterior dos veces más hasta obtener un extracto enzimático delipidado.

Cuantificación de proteína

Se determinó la concentración de proteína del extracto enzimático por método de Bradford (1976), empleando albumina sérica bovina (BSA) como estándar.

Ensayo de actividad lipasa

Para la cuantificación de actividad enzimática se utilizó un sustrato colorimétrico. Brevemente, en la microplaca se depositaron 10 µL (0.08 miligramos [mg] de proteína) extracto enzimático y 190 µL de emulsión, la cual se preparó mezclando 18 partes de la solución amortiguadora (25 mM tris-HCl; 150 mM NaCl; Triton X-100 0.1 % (p/v), pH 8.0) por una parte de sustrato de 10 mM *p*-nitrofenil butirato disuelto en DMSO.

La pendiente se obtuvo mediante 31 lecturas cada 30 s en agitación media entre cada medición. Se determinó actividad lipasa a 410 nm a 40 °C. Una unidad de lipasa corresponde a la cantidad de enzima que libera 1 µmol de *p*-nitrofenol por minuto.

Electroforesis y zimograma de actividad lipasa

El perfil de proteínas del extracto enzimático (30 µg de proteína) se analizó por electroforesis en gel de poliacrilamida SDS-PAGE al 12 %. La electroforesis se llevó a 15 mA (miliamperios) a una temperatura de 4 °C. Se utilizó un marcador de bajo peso molecular (BIO-RAD low-range SDS-PAGE standards, 161-0304). Para determinar actividad lipasa, una vez terminada la separación de proteínas, el gel fue sumergido en una solución de 50 mM, Tris-HCl y Tritón X-100 al 1.0 %, pH 8.0) por 30 min.

Terminado este tiempo, se realizaron dos lavados con agua destilada. Por último, se incubó el gel por 15 min en una solución de 50 mM Tris-HCl, pH 8.0 con 100 µM de metilumbeliferoil butirato (MUF-Butirato) disuelto en DMSO.

La visualización del zimograma se realizó bajo luz UV. El teñido del gel se llevó a cabo con solución de azul de Coomassie (0.025 % Coomassie Brilliant Blue R250, metanol 40 % (v/v), ácido acético 7 % (v/v) durante 2 horas (h), y se destiñó realizando lavados en una solución de etanol al 70 %.

Síntesis enzimática de ésteres de ácidos grasos

La síntesis de los ésteres de oleico se llevó a cabo en un volumen de reacción de 1 mililitro (mL) a una relación molar 1:15 (ácido oleico: alcohol) en 2,2,4-trimetilpentano (isooctano). Los alcoholes utilizados fueron los siguientes: isobutil alcohol y alcohol oleílico. Brevemente, se adicionaron 100 μ L de extracto fresco (0.02 U/mg) y una porción apropiada de tamiz molecular para generar condiciones anhidras. La reacción se incubó a 40 °C y 1,300 revoluciones por minuto (rpm) durante tres días. Se utilizó la lipasa B de *Candida antarctica* (CALB) inmovilizada en immobead 150 (12.5 mg) como control positivo.

Cromatografía en capa fina

Para la detección y monitoreo del producto de síntesis se utilizó cromatografía en capa fina (TLC) cada 24 horas. Se emplearon cromatoplacas de sílica gel en láminas de aluminio y una fase móvil hexano/éter etílico/ácido acético glacial (95:5:1 v/v/v). Se inyectaron 2 μ L de producto de reacción, y se utilizó como estándar el ácido oleico y etil oleato. Por otro lado, la reacción con CALB se realizó en placas de sílice con soporte de cristal y una fase móvil de relación 90:10:1 (v/v/v) de Hexano/etil acetato/ácido acético glacial. Los productos de síntesis fueron visualizados utilizando yodo sublimado hasta la aparición de manchas.

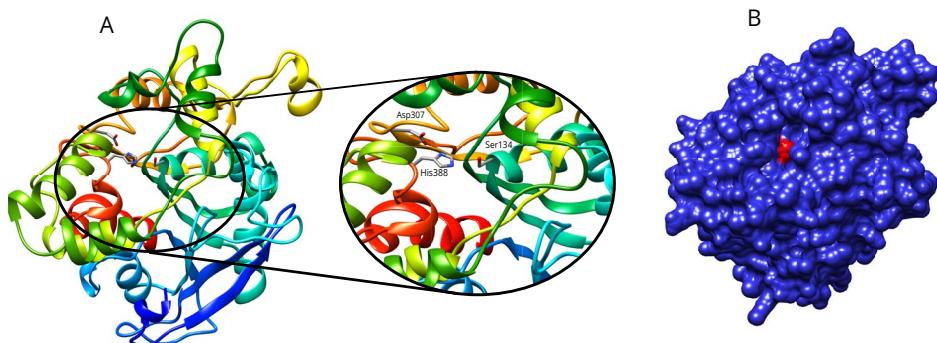
Resultados y discusión

Estudio *in silico*

Modelo tridimensional

Mediante la plataforma en línea SWISS-MODEL se construyó el modelo tridimensional de PVL (figura 1) que toma por plantilla objetivo a la estructura cristalina de lipasa gástrica de perro (PDB ID: 1K8Q), el cual mostró una identidad de secuencia de 33.71 %. El porcentaje de identidad debajo de 30 % es un indicativo de que la estructura es poco fiable y presenta inexactitudes (Bordoli et al., 2009); por lo tanto, el modelo de PVL supera la fiabilidad.

Figura 1. Modelo tridimensional de la lipasa digestiva de *L. vannamei* por el servidor SWISS-MODEL, basado en la lipasa gástrica de perro (PDB ID: 1K8Q)



Elaboración propia.

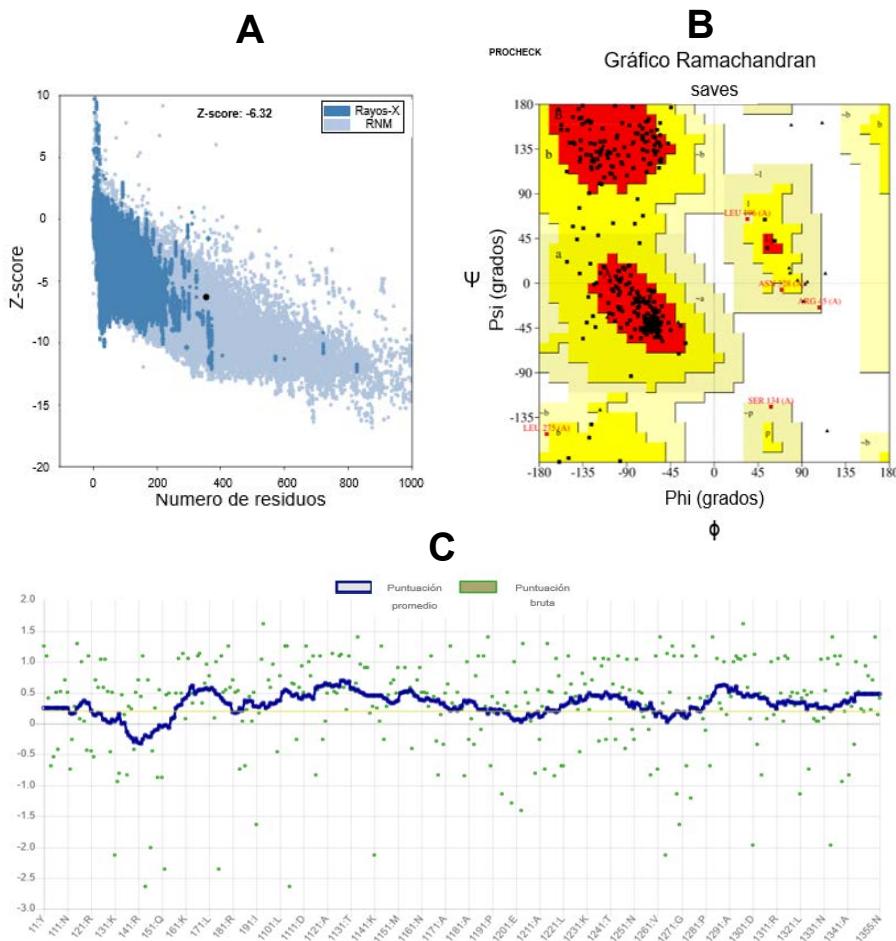
A: estructura secundaria y triada catalítica en sticks (Ser134, Asp307, His388). B: conformación abierta de la lipasa Ser134 indicada en rojo.

Evaluación del modelo tridimensional

El modelo PVL fue evaluado en PROSA-web, que arroja un puntaje de z-score, el cual realiza una comparación entre la proteína a evaluar con otras nativas de tamaño similar depositadas en Protein Data bank (Wiederstein & Sippl, 2007).

En la figura 2, apartado A, el modelo de PVL mostró un puntaje de -6.32, con lo que se encontró dentro del rango aceptable de estudios de rayos X y resonancia magnética nuclear (RMN) acorde al gráfico comparativo.

Figura 2. Validación del modelo tridimensional PVL



Elaboración propia.

A: Evaluación de la calidad general y Z-score. B: Gráfico Ramachandran. C: Análisis de puntuación perfil 3D-1D de estructuras proteicas por Verify 3D.

En PROCHECK se realizó una evaluación geométrica a los residuos de PVL a través del gráfico de Ramachandran. Dicho modelo obtuvo 87.5 % de residuos en la región favorecida (color rojo), y en la región no permitida (color amarillo tenue) tuvo ausencia de residuos (figura 2, apartado B). De

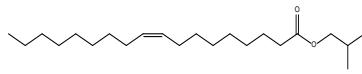
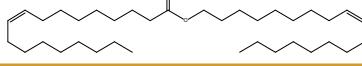
lo anterior se sugiere que este presenta en su mayoría una distribución favorable de sus residuos (Choudhuri, 2014). Sin embargo, valores mayores a 90 % de residuos en regiones favorecidas es un indicativo de la calidad del modelo proteico (Laskowski et al., 2006).

En Verify 3D, se examina la similitud del modelo atómico (3D) y su secuencia de aminoácidos (1D), que incluye criterios como el área del residuo, fracción del área de la cadena lateral de átomos polares y estructura secundaria (Lüthy et al., 1992). En la figura 2, apartado c, se indica que la estructura presentó un 78.59 % en el perfil $3D-1D \geq 0.2$. Se encontró debajo de la relación permitida ($>80\%$).

Acoplamiento molecular

Para profundizar la interacción entre PVL y ésteres de ácidos grasos, se realizó acoplamiento molecular con isobutil oleato y oleil oleato obteniendo la energía de unión de cada complejo (tabla 1). Cabe mencionar que una baja energía de unión (kcal/mol) estima una favorable y estable afinidad entre el complejo enzima-ligando (Abookleesh et al., 2022). Por lo tanto, se asocia que los productos de la esterificación poseen una potencial afinidad en la enzima digestiva, además de las interacciones resultantes como puentes de hidrógeno con la serina nucleofílica (responsable de la catálisis) e interacciones hidrofóbicas (figura 3).

Tabla 1. Afinidad de ésteres de oleico en la lipasa digestiva de *L. vannamei*

Éster de oleico		Energía de unión (kcal/mol)	Distancia oxígeno de Ser134 entre enlace éster (Å)
Isobutil oleato		-5.2	2.9
Oleil oleato		-5.6	3.0

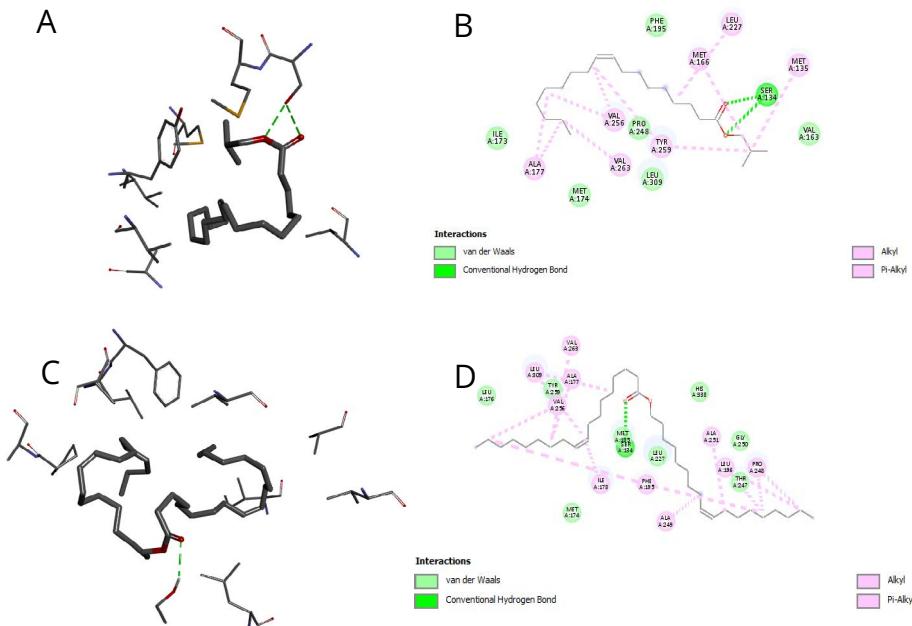
Elaboración propia.

La especificidad de sustrato (acilo-especificidad) se ha estudiado considerablemente en lipasas. Rivera-Pérez et al. (2011) encontraron que PVL

es capaz de hidrolizar TAGS de diferente longitud de cadena, pues muestra mayor especificidad en trioleína ($1,787.3 \pm 7.9$ U·mg $^{-1}$). Otras lipasas digestivas de invertebrados acuáticos, como el cangrejo verde (*Carcinus mediterraneus*) y el caracol marino (*Hexaplex trunculus*), muestran mayor especificidad de hidrolizar tributirina que TAGS de cadena larga, como los del aceite de oliva (Cherif et al., 2007; Zarai et al., 2012).

Por lo tanto, la lipasa del camarón tiene la capacidad de hidrolizar sustratos de diferente longitud de cadena; sin embargo, la catálisis en sustratos de cadena larga muestra un microambiente mayormente favorable entre los residuos del bolsillo de unión de la enzima, tal y como muestra la simulación y cinéticas de previos estudios.

Figura 3. Acoplamiento de PVL y ésteres de oleico



Elaboración propia.

A: Pose del complejo PVL y isobutil oleato. B: Diagrama 2D de interacciones intermoleculares. C: Pose del complejo PVL y oleil oleato. D: Diagrama 2D de interacciones intermoleculares.

Estudios *in vitro*

Actividad lipasa de extracto

La actividad lipolítica del extracto enzimático empleando *p*-nitrofenil butirato como sustrato mostró 0.19 ± 0.01 U/mg de actividad específica. En el trabajo de Chahiniana & Sarda (2009) observaron que lipasas y esterasas presentan actividad en medio con *p*-nitrofenil butirato, sin embargo, lo hacen a velocidades y parámetros cinéticos distintivos. Además, la naturaleza soluble del sustrato permite la hidrólisis por ambas enzimas.

Cabe mencionar que hay distinciones entre lipasas y esterasas, como la capacidad de hidrólisis del sustrato dependiendo de la longitud de cadena: las lipasas son activas en cadenas de acilo largas (mayor de 10 carbonos) (Navvabi et al., 2018), mientras que las esterasas prefieren sustratos cortos (menor de 10 carbonos) (Chahiniana & Sarda, 2009).

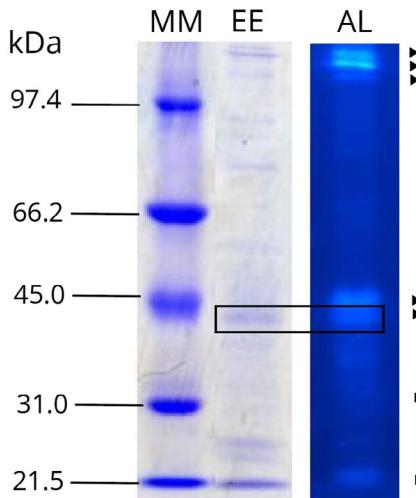
Así, el extracto enzimático del camarón tiene la capacidad de hidrolizar sustratos como *p*-nitrofenil butirato, sin embargo, no se define como actividad lipasa verdadera al ser un sustrato de cadena corta y soluble, por lo que es necesario emplear sustratos de mayor longitud o TAGS (Cachacho-Ruiz et al., 2015) para definir actividad lipasa verdadera o esterasa del extracto. Hasta el momento se ha caracterizado y distinguido en algunos crustáceos actividad lipasa verdadera, responsables de la hidrólisis de TAGS en el proceso de digestión (Rodríguez-Viera et al., 2022).

Perfil proteico y zimograma de lipasas

El perfil de proteínas y zimograma para la detección de actividad lipasa/esterasa del extracto se muestra en la figura 4. En el carril determinado como EE, que corresponde al perfil proteínico, se observó una serie de bandas de diferente peso molecular. Las bandas de mayor intensidad se encuentran cerca de 97.4 kda. Las bandas de menor intensidad (5, 6 y 7), tienen una masa molecular cercana a 45.0, 31.0 y 21.5 kda, respectivamente.

PVL posee una masa molecular de 44.8 kda (Rivera-Pérez et al., 2011), mientras que en otros invertebrados como el escorpión (*Scorpio Maurus*) es de 50 kda (Zouari et al., 2005), y en el caracol marino (*H. Trunculus*), alrededor de 70 kda (Zarai et al., 2012).

Figura 4. SDS-PAGE (12 %) de extracto de glándula digestiva de *L. vannamei* y zimograma de lipasa/esterasa utilizando MUF-butirato



Elaboración propia.

MM: marcador de bajo peso molecular, EE: extracto enzimático, AL: actividad lipasa

Mediante zimografía (figura 4, carril AL) se detectaron una serie de bandas con actividad lipasa/esterasa La banda cercana a 45 kDa confirma la identificación de PVL, y las bandas de mayor peso, de lipasas intracelulares (Rivera-Pérez, 2010).

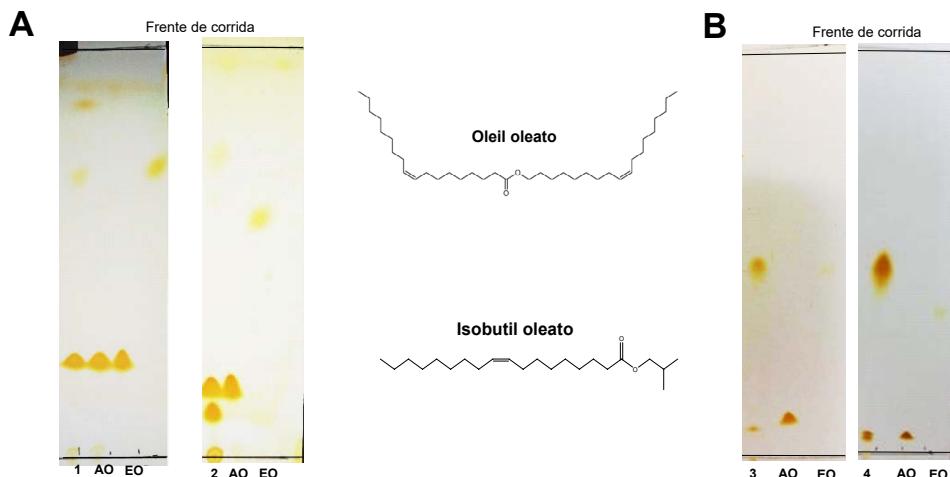
Las bandas 6 y 7 corresponden a quimotripsinas reportadas en el camarón (Hernández-Cortés et al., 1997). La capacidad de hidrolizar MUF-butirato se debe a que también pertenecen a la familia serino hidrolasa, y comparten propiedades bioquímicas y llevar a cabo un mecanismo de catálisis similar, por lo tanto, al de lipasas/esterasas.

Síntesis de ésteres de oleico por lipasas digestivas del camarón

El análisis por cromatografía de capa fina reveló la aparición de los componentes de la reacción (figura 5, apartado A), que corresponden al ácido oleico excedente y a los productos de síntesis de isobutil oleato y oleil

oleato. En el apartado B se encuentra el análisis de cromatografía de cromatografía de *CALB*, control positivo del ensayo.

Figura 5. Análisis de la reacción de esterificación enzimática de ésteres de oleico por TLC



A: Extracto enzimático de *L. vannamei* empleando una fase móvil hexano/éter etílico/ácido acético glacial (95:5:1). B: lipasa B de *Candida antarctica* inmovilizada en Immobead 150 utilizando una fase móvil hexano/étil acetato/ácido acético glacial (90:10:1.). Carril 1 y 3: isobutil oleato. Carril 2 y 4: oleil oleato; AO STD: estándar ácido oleico; EO STD: estándar etil oleato.

El primer acercamiento de síntesis orgánica llevado a cabo por lipasas de crustáceos es la lipasa de *L. vannamei* en la producción de biodiesel a partir de aceite de palma residual, con un rendimiento de 91.45 % (Rakkan et al., 2017). Por otro lado, la lipasa B de *Candida antarctica* y otras lipasas microbianas ha sido ampliamente utilizada en la síntesis de ésteres de ácidos grasos, en los que se obtuvieron resultados satisfactorios en distintos sistemas de reacción (Azudin et al., 2013; Cavallaro et al., 2019).

En la síntesis de etil oleato por la lipasa recombinante de *Rhizopus oryzae* inmovilizada en n-heptano, se obtuvo 80 % de conversión del ácido graso en un lapso de 30 min (Dutra Madalozzo et al., 2014). Además, en la producción de butil oleato y etil oleato por cepas de *Candida antarctica* sp. 99-125, se alcanzaron rendimientos de 72.5 % y 18.1 %, respectivamente, después de 11 h de reacción (Chen et al., 2018).

En ésteres de ácidos grasos voluminosos (empleando alcoholes secundarios), la CALB inmovilizada en un sistema libre de solvente alcanzó un rendimiento de 92.52 % para la síntesis de isobutil propionato (Kuperkar et al., 2014). Sintetizar isobutil y oleil oleato implica la potencial capacidad de las lipasas/esterasas de *L. vannamei* en síntesis de moléculas voluminosas y complejas, características deseables en biocatalizadores en el sector farmacéutica, cosmética y alimentaria.

Conclusiones

Mediante herramientas computacionales se modeló la estructura tridimensional de la lipasa digestiva de *Litopenaeus vannamei*, la cual cumple con los requisitos para ser utilizada en la simulación de acoplamiento molecular y estudiar la interacción enzima-ligando. El acoplamiento molecular de la lipasa digestiva de *L. vannamei* (PVL) y ésteres de oleico mostraron afinidades prometedoras al interactuar con un residuo catalítico. Además, el extracto enzimático de camarón sintetizó isobutil y oleil oleato en un sistema anhidro de isoctano. Con esto reveló la capacidad de síntesis de cadenas de acilo largas con insaturaciones y cortas voluminosas. Por tanto, el hepatopáncreas es un subproducto de valor agregado, fuente de lipasas/esterasas con potencial de síntesis de ésteres en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria.

Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por la beca otorgada (1149829) y al proyecto PROFAPI-ITSON (DFP300320165).

Referencias

- Abookleesh, F., Mosa, F. E., Barakat, K. & Ullah, A. (2022). Assessing molecular docking tools to guide the design of polymeric materials formulations: a case study of canola and soybean protein. *Polymers*, 14(17), 3690. <https://doi.org/10.3390/polym14173690>
- Albayati, S. H., Masomian, M., Ishak, S. N. H., Mohamad Ali, M. S. B., Thean, A. L., Shariff, M. & Raja Abd Rahman, R. N. Z. (2020). Main structural targets

- for engineering lipase substrate specificity. *Catalysts*, 10(7), 747. <https://doi.org/10.3390/catal10070747>
- Azudin, N. Y., Don, M. M. & Shukor, S. A. (2013). Production and kinetics of isoamyl acetate from acetic anhydride using *Candida antarctica* lipase b in a solvent-free system. *Chemical Engineering Transactions*, 32, 1057-1062. <https://doi.org/10.3390/CET1332177>
- Bordoli, L., Kiefer, F., Arnold, K., Benkert, P., Battey, J. & Schwede, T. (2009). Protein structure homology modeling using SWISS-MODEL workspace. *Nature Protocols*, 4(1), 1-13. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.197>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brault, G., Shareck, F., Hurtubise, Y., Lépine, F. & Doucet, N. (2014). Short-chain flavor ester synthesis in organic media by an *E. coli* whole-cell biocatalyst expressing a newly characterized heterologous lipase. *PLoS ONE*, 9(3), e91872. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091872>
- Cavallaro, V., Tonetto, G. & Ferreira, M. L. (2019). Optimization of the enzymatic synthesis of pentyl oleate with lipase immobilized onto novel structured support. *Fermentation*, 5(2), 48. <https://doi.org/10.3390/fermentation5020048>
- Chahiniana, H. & Sarda, L. (2009). Distinction between esterases and lipases: comparative biochemical properties of sequence-related carboxylesterases. *Protein and Peptide Letters*, 16(10), 1149-1161. <https://doi.org/10.2174/092986609789071333>
- Camacho-Ruiz, M. A., Mateos-Díaz, J. C., Carrière, F. & Rodríguez-González, J. A. (2015). A broad ph range indicator-based spectrophotometric assay for true lipases using tributyrin and tricaprylin. *Journal of lipid research*, 56(5), 1057-1067.
- Chen, C., Chen, H., Sun, G., Cai, J., Zhen, Y., Cai, D., Qin, P., Chen, B. & Tan, T. (2018). Oleate esters production by bridging *Clostridium acetobutylicum* fermentation and *Candida* sp. 99-125 full-cell catalysis based on gas stripping-pervaporation unit. *Process Biochemistry*, 71, 12-17. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.05.023>
- Cherif, S., Fendri, A., Miled, N., Trabelsi, H., Mejdoub, H. & Gargouri, Y. (2007). Crab digestive lipase acting at high temperature: purification and bio-

- chemical characterization. *Biochimie*, 89(8), 1012-1018. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2007.02.005>
- Choudhuri, S. (Ed.) (2014). Additional bioinformatic analyses involving protein sequences. En *Bioinformatics for beginners: genes, genomes, molecular evolution, databases and analytical tools* (pp. 183-207). Oxford Academic Press.
- Dutra Madalozzo, A., Sanvido Muniz, L., Baron, A. M., Piovan, L., Alexander Mitchell, D. & Krieger, N. (2014). Characterization of an immobilized recombinant lipase from *Rhizopus oryzae*: synthesis of ethyl-oleate. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 3(3), 13-19. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2013.12.005>
- FDA. (2022). *Title 21 Food and Drugs; Chapter I: Food and Drug Administration; Subchapter B: Food for human consumption (continued); Part 177: Indirect food additives: Polymers*.
- Gandhi, N. N., Patil, N. S., Sawant, S. B., Joshi, J. B., Wangikar, P. P. & Mukesh, D. (2000). Lipase-catalyzed esterification. *Catalysis Reviews*, 42(4), 439-480.
- Gibson, R. (1979). The decapod hepatopancreas. *Oceanography and Marine Biology: An annual review*, 17, 285-346.
- Hernández-Cortés, P., Whitaker, J. R. & García-Carreño, F. L. (1997). Purification and characterization of chymotrypsin from *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). *Journal of food biochemistry*, 21(1), 497-514. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1997.tb00202.x>
- Kuperkar, V. V., Lade, V. G., Prakash, A. & Rathod, V. K. (2014). Synthesis of isobutyl propionate using immobilized lipase in a solvent free system: Optimization and kinetic studies. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 99, 143-149. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2013.10.024>
- Laskowski, R., MacArthur, M. & Thornton, J. (2006). procheck: validation of protein-structure coordinates. *International Tables for Crystallography Volume F: Crystallography of biological macromolecules*, F(25.2), 722-725. <https://onlinelibrary.wiley.com/iucr/itc/Fa/ch25o2v0001/sec25o2o6.pdf>
- Lüthy, R., Bowie, J. U. & Eisenberg, D. (1992). Assessment of protein models with three-dimensional profiles. *Nature*, 356(6364), 83-85. <https://doi.org/10.1038/356083a0>
- Martins, A. B., da Silva, A. M., Schein, M. F., Garcia-Galan, C., Ayub, M. A. Z., Fernandez-Lafuente, R., & Rodrigues, R. C. (2014). Comparison of the performance of commercial immobilized lipases in the synthesis of different

- flavor esters. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 105, 18-25. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2014.03.021>
- Maytorena, C. (2011). *Efecto de solventes orgánicos y temperatura en la actividad enzimática de las lipasas digestiva e intracelular de Penaeus vannamei*. [tesis de maestría, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S. C CIBNOR], Repositorio del CIBNOR. https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/1314/1/maytorena_c.pdf
- Navvabi, A., Razzaghi, M., Fernandes, P., Karami, L. & Homaei, A. (2018). Novel lipases discovery specifically from marine organisms for industrial production and practical applications. *Process Biochemistry*, 70, 61-70. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.04.018>
- Rakkan, T., Suwanno, S., Paichid, N., Yunu, T., Klomklao, S., & Sangkharak, K. (2017). Optimized synthesis method for transesterification of residual oil from palm oil mill effluent and lipase from Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) hepatopancreas to environmentally friendly biodiesel. *Fuel*, 209, 309-314. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.07.115>
- Reyes, G. G. (2020). Genotoxicity by pahs in shrimp (*Litopenaeus Vannamei*) and its impact on the aquaculture of two coastal ecosystems of the Gulf of California, Mexico. *European Journal of Agriculture Food Sciences*, 2(4). <https://doi.org/10.24018/ejfood.2020.2.4.78>
- Rivera-Pérez, C. (2010). *Lipasas en Penaeus Vannamei: genes y proteínas involucradas en la hidrólisis de triacilglicéridos* [tesis de maestría Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S. C CIBNOR]. Repositorio del CIBNOR. https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/254/1/rivera_c.pdf
- Rivera-Pérez, C., García-Carreño, F. L. & Saborowski, R. (2011). Purification and biochemical characterization of digestive lipase in whiteleg shrimp. *Marine biotechnology*, 13(2), 284-295. <https://doi.org/10.1007/s10126-010-9298-7>
- Rodríguez-Viera, L., Perera, E., Pila, I. A., Moyano, F. J., Mancera, J. M. & Díaz, M. (2022). True lipase activity and *in vitro* digestibility of potential lipid sources for the spiny lobster Panulirus argus feeds. *Aquaculture*, 555, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738191>
- Sakamoto, K., Lochhead, H., Maibach, H. & Yamashita, Y. (2017). *Cosmetic science and technology: theoretical principles and applications*. Elsevier.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). (2018). *Informe anual de la dependencia Sonora*. Gobierno

- de México. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/490156/informe_version_final__1_-comprimido.pdf
- U. S. Food and Drug Administration. (Agosto 2022). *Title 21 Food and Drugs; Chapter I: Food and Drug Administration; Subchapter B: Food for human consumption (continued); Part 177: Indirect food additives: Polymers.* U.S. Food and Drug Administration. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=177&showFR=1&subpartNode=21:3.0.1.1.8.2>
- Wiederstein, M. & Sippl, M. (2007). ProSA-web: interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. *Nucleic Acids Research*, 35(suppl_2), 407-410. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm290>
- Zarai, Z., Ali, M. B., Fendri, A., Louati, H., Mejdoub, H. & Gargouri, Y. (2012). Purification and biochemical properties of *Hexaplex trunculus* digestive lipase. *Process Biochemistry*, 47(12), 2434-2439. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.10.004>
- Zouari, N., Miled, N., Cherif, S., Mejdoub, H. & Gargouri, Y. (2005). Purification and characterization of a novel lipase from the digestive glands of a primitive animal: the scorpion. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1726(1), 67-74. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2005.08.005>

Fortalecimiento del manejo adecuado de los residuos generados durante el proceso de obtención de café y actividades afines como iniciativa de generación de microeconomía circular

Elizabeth Rojas AMAYA*

Resumen

Colombia ha sido reconocido a nivel mundial por ser el tercer productor de café en el mundo, con predominio en la alta calidad de la variedad Arábica, proceso lavado. Según la Federación Nacional de Cafeteros colombianos (FNC), la producción de café verde en los últimos siete años ha tenido un crecimiento cercano al 90 %, con una producción de 14.7 millones de sacos de 60 kilogramos, distribuida en las más de 560,000 fincas de caficultores. La región predominantemente cafetera en Colombia es denominada Eje cafetero de Colombia, y comprende cinco departamentos: Huila, Antioquia, Tolima, Cauca y Caldas. Sin embargo, la caficultura se ha extendido por otros 16 departamentos más con un gran potencial en esta producción. Está el caso de Cesar, ubicado al noreste del país, en la región Caribe, parte del sistema montañoso que da origen a la Sierra Nevada de Santa Marta y la Sierra de Perijá, características geográficas que brindan beneficios ambientales a los cafetales, aunado a la presencia de asentamientos indígenas que aportan los conocimientos tradicionales al manejo de estos cultivos desde su cosmovisión y cultura. Gracias a esta se puede desarrollar una economía circular que optimice los recursos cafetales y aproveche sus residuos. De acuerdo a lo anterior, en este trabajo se plantearon tres objetivos: identificar los microorganismos nativos con propiedades PGPR (*plant growth promoting rhizobacteria*) en la pulpa de

* Pregrado universitario, Universidad De Santander, campus Valledupar. Bacteriología y Laboratorio clínico. Líneas de investigación: tecnología de producción y control de calidad en alimentos; desarrollo científico y tecnológico. era1320@gmail.com

café, estandarizar un protocolo para la elaboración de biocompost y lombricompost a partir de los residuos generados en la producción de café y capacitar a los propietarios de las fincas cafeteras acerca del manejo adecuado de residuos generados durante el proceso de obtención del café.

Palabras clave: café, PGPR, compost, indígenas.

Introducción

Hoy en día se plantean muchas alternativas a favor de reducir o reemplazar el uso de agroquímicos (fertilizantes y pesticidas) por nuevos procedimientos o insumos que no produzcan efectos secundarios dañinos tanto para la salud humana como para el medio ambiente. De igual forma, se debe tener en cuenta que dichos procesos deben mejorar la productividad de los cultivos de interés (Pathma et al. 2011).

Existen ciertos géneros de bacterias que se destacan por tener la capacidad de colonizar la rizosfera de diferentes especies de plantas; además, tienen una gran variedad de propiedades genéticas y fisiológicas que están íntimamente relacionadas con la mejora del crecimiento vegetal. Dichas propiedades son conocidas como pgpr (del inglés, *plant growth promoting rhizobacteria*) (Farina, 2014). Ante los problemas ocasionados por el uso de fertilizantes químicos y la baja productividad, la propuesta de usar fertilizantes bacterianos con características, la PGPR es una alternativa que en los últimos años ha tomado mayor interés por diversos investigadores que han realizado estudios en numerosos cultivos de importancia agro-nómica. (Fernández-Aunión et al., 2013). En la actualidad, en Colombia se sabe poco acerca de los microorganismos que podrían ser asociados al cultivo del café (*Coffea arabica*) y su acción en el desarrollo de la planta.

Los procariotas son la forma más antigua y exitosa de vida gracias a su persistencia y esparcimiento en todos los hábitats de la Tierra (Coyne, 1999). Las bacterias son actores clave en los ecosistemas del suelo, como participantes en los principales ciclos de nutrientes y las interacciones con otros microorganismos y eucariotas. En particular, tienen un papel importante en la determinación de la productividad de los sistemas agrícolas porque algunas especies pueden causar enfermedades de los cultivos, mientras que otras pueden promover el crecimiento o la salud de la planta (Agaras et al., 2012).

Partiendo de esta consigna, promover la búsqueda incesante de nuevos posibles microorganismos que tengan la capacidad de funcionar como agente biocontrol es crucial para lograr el establecimiento de una herramienta natural contra patógenos.

La identificación de los microorganismos nativos que se encuentran en la pulpa de café brinda las condiciones necesarias para evaluar el alcance de los mismo en el desarrollo del crecimiento de la planta en general. Para la reutilización y recuperación de los residuos orgánicos generados en la finca cafetera, obtenidos de la mineralización de diferentes residuos vegetales y animales —principalmente a través de un proceso bioquímico para su aprovechamiento— deben establecerse parámetros para un cultivo sostenible, ya sea por lo anteriormente mencionado o por la inclusión de otro tipo de especie, como las lombrices, lo cual se convierte en lombricompost.

Asimismo, al hablar de biocompost se hace referencia al resultado del proceso de humidificación de la materia orgánica bajo condiciones controladas, que a partir de elementos biológicos diversos constituye un nutriente para el suelo en favor de mejorar sus propiedades físicas y químicas que ayudarán a reducir la erosión o alguna situación desfavorable en el mismo. Es importante resaltar que la calidad del biocompost depende de la utilización de una excelente materia prima, con microorganismo eficientes, climatología adecuada, manejo profesional e instalaciones que permitan realizar un proceso de cribado, secado y envasado (Lemus Angulo, 2019).

Con lo anterior se pretende instruir a la comunidad indígena acerca del manejo adecuado de los residuos que se generan durante el proceso en la obtención final del café, que junto con la implementación de la microeconomía circular —es decir, la forma en que las personas utilizan sus propios recursos optimizándolos para generar un comportamiento económico estable dentro del sistema financiero local— (Urday-Caceres et al., 2020) hace que la estructura e innovación en el mercado contribuya al establecimiento de una nueva forma de generación de ingresos, que se espera logre el alcance necesario en su reproducibilidad y la comunidad lo adopte en su totalidad.

Metodología

La investigación fue realizada en una finca cafetera de la comunidad indígena arhuaca de Yewrwa, ubicada en la zona sur-oriental de la Sierra

Nevada de Santa Marta, en la parte alta de la cuenca del río Ariguaní, municipio de Pueblo Bello, departamento del Cesar.

Para la reutilización y recuperación de los residuos orgánicos generados en la finca cafetera primero se impartió una capacitación sobre el manejo adecuado de los residuos orgánicos, previa a la identificación de su disposición final y los productos derivados en la obtención del café, mediante el procedimiento del beneficio.

Posteriormente, se hizo una inspección del terreno en la finca cafetera para la construcción de la fosa techada y la elaboración del biocompost. En este se tuvo en cuenta la mezcla de materia orgánica en descomposición, producida en la finca en condiciones aeróbicas; asimismo, se manejaron varias fases, como la mesófila, termófila, mesofilia II y la fase de maduración, que con un monitoreo constante de la temperatura, humedad y luminosidad serían verificados minuciosamente para controlar el crecimiento y la reproducción. El biocompost contiene elementos fertilizantes para las plantas, aunque en forma orgánica y en menor proporción que los fertilizantes minerales.

Una vez que se seleccionó el sitio cubierto seco y firme, de inmediato se realizó la trituración de los residuos de consistencia gruesa producidos en la finca hasta obtener un tamaño ideal de 1-3 centímetros (cm) de profundidad. Se procedió a señalar los espacios y áreas correspondientes al acoplamiento de los residuos orgánicos. Se pesaron la cantidad de residuos e insumos a utilizar y se registró toda la información. En un recipiente de plástico, se disolvió la fuente de energía, que en este caso sería la melaza, junto al agua, y tras esto, se adicionaron las cascarras de café. Se tomó registro fotográfico de ello. Una vez se había designado el área; se dio inicio al montaje de la estructura.

Cuando terminó la construcción, para dar inicio al proceso de bio-compost/lombricompost se requirió la recolección del material orgánico producido en la finca: cáscaras de huevo, de frutas, de verduras crudas o cocinadas, café molido o en grano. Se tomaron aproximadamente 35 kilogramos (kg) de pulpa de café húmedo y la misma cantidad (35 kg) de pulpa seca, junto a 10 kg de lombrices rojas tipo californiana con una maduración aproximada de 25 días. Todo se dispuso en la fosa, y con ello, se dio inicio al proceso.

De la pulpa que se generó en el proceso de la obtención del grano del café, se recolectaron 3.5 kg, en los cuales se realizó el aislamiento y la identificación de bacterias con propiedades PGPR.

Protocolo de identificación de bacterias PGPR

Actualmente, la gran mayoría de cultivos agrícolas o cafetales dependen de los fertilizantes químicos sintetizados, los cuales proporcionan nutrientes asimilables por las plantas. Esto se hace en buscando optimizar los procesos de producción. Sin embargo, su uso indiscriminado ocasiona contaminación de cuerpos de agua y suelos, el incremento de los costos de producción y un impacto negativo en la salud animal y humana.

El empleo de cepas de microorganismos con un alto potencial de acción sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas y el estudio de la diversidad biológica de sus patógenos son factores clave en su control y, por tanto, en el manejo integral de los cultivos.

El suelo es un ecosistema de enorme riqueza microbiana, en el cual se puede destacar un grupo de bacterias conocido como PGPR, las cuales colonizan la raíz y estimulan significativamente el crecimiento de plantas. En el caso de los cultivos de café de la zona habitada por el grupo indígena arhuaco del municipio Pueblo Bello, Cesar, se realizará la identificación de las principales bacterias con propiedades PGPR provenientes de la pulpa del café, lo cual es posterior al proceso de despulpado. Esto estará plasmado en el siguiente protocolo.

Materiales y métodos

Muestreo

Las muestras de la pulpa del café de la variedad *Coffea arábica* son colectadas en bolsas de polietileno de cierre hermético con una cantidad total en cada una de ellas de aproximadamente 3 kg. Las muestras se transportan manteniendo una cadena de frío con bolsas de gel refrigerante hasta el laboratorio, donde se hará el análisis microbiológico. Una vez ahí, se pesan asepticamente 10 gramos de 20 muestras y se lavan en 180 ml de agua peptonada al 0.1 %, agitando las botellas por cinco minutos y dejando reposar por 30 minutos.

Se realizan diluciones seriadas. En la primera (x101) se adicionan 10 g de pulpa de café en un Erlenmeyer que contiene 90 ml de agua peptonada al 0.1 %.

Para realizar las demás diluciones, se utilizan tubos de ensayos previamente esterilizados que tengan 9 ml de agua peptonada al 0.1 %, y con ayuda de una micropipeta se toma 1 ml de la dilución x101 y se adiciona en uno de los tubos de ensayo que corresponderá a la dilución x102. Este procedimiento se realiza hasta llegar a la dilución x105.

Posteriormente, se prepara el medio de cultivo para bacterias que corresponde al agar nutritivo, agar MRS, agar OXOID, agar mERCK y EMB teniendo en cuenta las especificaciones del producto junto a la previa esterilización en el autoclave a 15 libras de presión (121 °C) por 15 minutos para luego dejar enfriar a temperatura ambiente, en cámara de flujo laminar.

Siembra

Se realizará siembra a profundidad de las diluciones obtenidas, de las cuales se tomará 1 ml y se adicionará en las cajas de Petri estériles vacías y rotuladas (con cada dilución); este procedimiento se hará por duplicado. Luego, a cada caja Petri se le agregarán aproximadamente 15 ml del agar fundido y mantenido a 45 °C, donde se mezclará con el inóculo haciendo suavemente un ocho (8) para dejarla solidificar. Estas cajas se encubarán a 35 °C durante 24 horas.

Una vez cumplido el tiempo de incubación se realizará el conteo de colonias bacterianas. Aquellas placas que contengan un número de colonias entre 30 y 300 serán seleccionadas. Finalmente, se sacará el promedio de los duplicados, se multiplicará por el determinado factor de dilución y se expresará como log₁₀ UFC/g para facilitar su interpretación.

Identificación microscópica

Al seleccionarse las colonias se procede a la identificación microscópica a nivel de morfología. De esta se realizará la correspondiente clasificación, plasmada en un cuadro comparativo con la mayor predominancia.

Identificación de género y especie

Una vez aisladas las colonias de las diferentes bacterias crecidas en los medios selectivos, serán enviadas al laboratorio de referencia SYNLAB para que, por medio de pruebas específicas y de alta complejidad, se obtengan los géneros y especies de las bacterias con propiedades PGPR.

Resultados y discusión

Actividad microbiana en la pulpa de café

Existe poca información que establezca la actividad antimicrobiana del café o de alguno de sus componentes, como en el estudio realizado por Almeida et al. (2006), donde evaluaron la actividad antibacteriana de extractos acuosos de café (A, B y C) frente a enterobacterias (*Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella entérica*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus hauseri*, *Escherichia coli* y *Klebsiella oxytoca*) mediante el método de difusión en disco con soluciones de 2.0 mg/ml de cafeína, trigonelina, ácido clorogénico, cafeico y protocatecuico. Por otro lado, se evaluó la actividad antibacteriana de un extracto acuoso de pulpa de café obtenido por maceración frente a las bacterias gram negativas *E. coli* y *Bacillus subtilis* y las bacterias gram positivas *S. aureus*, *Salmonella typhimurium* y *Listeria monocytogenes*.

La industria del café genera grandes cantidades de pulpa durante el procesamiento de la fruta, por lo que en años recientes se ha buscado la manera de utilizar este subproducto. Algunas opciones han incluido la producción de enzimas como amilasa (Murthy et al., 2009), pectinasa (Pushpa, 2011) y tanasa (Adwitiya & Venkatachalamapathy, 2016), así como la transformación de taninos de pulpa de café con *Penicillium verrucosum* para producir ácido gálico (Bhoite et al., 2013).

Identificación de los microorganismos nativos con propiedades PGPR en pulpa de café variedad arábiga

Muestra 1

En la tabla 1 se puede observar que las bacterias encontradas corresponden a bacterias gram positivas como *Bacillus cereus, thuringiensis* y *mycoides* y bacterias gram negativas como *Serratia marcescens* y *Pseudomonas aeruginosa*. Estas últimas fueron las más representativas en esta muestra.

Tabla 1. Aislamiento e identificación bacteriana de acuerdo a los métodos específicos estandarizados

Análisis	Método	Especificación	Resultado
Recuento total de Aerobios mesófilos UFC/g·mL	AOAC 966.23 ED. 21:2019	N/A	>300.000
Recuento de Pseudomonas aeruginosa UFC/cm ²	Recuento en placa	N/A	>300.000
Recuento de Lactobacillus UFC/g·mL	NTC 5230	N/A	300
Identificación de microorganismos	VITEK	N/A	<i>Serratia marcescens</i>
Identificación de microorganismos	VITEK	N/A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Identificación de microorganismos	VITEK	N/A	<i>Bacillus cereus/ thuringiensis y mycoides</i>

Elaboración propia.

Muestra 2

En esta muestra, al igual que la primera, hay una mayor representación de bacterias gram negativas como *Brevibacillus choshinensis* y *Pseudomonas aeruginosa*, teniendo en común un microorganismo gram positivo; en esta tabla 2 se muestra la bacteria *Enterobacter cloacae*.

Tabla 2. Métodos de aislamiento e identificación bacteriana obtenida de la muestra 2

Análisis	Método	Especificación	Resultado
*recuento total de Aerobios mesófilos UFC/g·mL	AOAC 966.23 ED. 21:2019	N/A	>300.000
Recuento de Pseudomonas aeruginosa UFC/cm ²	Recuento en placa	N/A	>300.000
Recuento de Lactobacillus UFC/g·mL	NTC 5230	N/A	300
Identificación de microorganismos	VITEK	N/A	Enterobacter cloacae
Identificación de microorganismos	VITEK	N/A	Pseudomonas aeruginosa
Identificación de microorganismos	VITEK	N/A	Brevibacillus choshinensis

Elaboración propia.

Conclusiones

Se definieron ciertos ítems de acuerdo con la interacción con la comunidad y a las respuestas dadas en la aplicación de instrumentos estadísticos (encuesta) con fines informativos acerca de la situación de vulnerabilidad de la comunidad arhuaca. Se pude mencionar que el idioma que más utilizan es el español en comparación a su lengua oficial que es el ikan; además se presenta una alta natalidad, y los roles que la mujer y el hombre tienen son muy dispares, puesto que la primera solo se dedica a labores del hogar y crianza, y el segundo, a desarrollar actividades en relación al campo. En este último es en donde pertenece la actividad agrícola primaria: la producción de café, en su variedad arábiga.

Se obtuvo a partir de la pulpa una serie de bacterias gram positivas (*Enterobacter cloacae* y del genero *Bacillus* con las especies *cereus*, *thuringiensis* y *mycoides*) y gram negativas (*Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Brevibacillus choshinensis*). Estas últimas fueron las más predominantes en los aislamientos realizados, las cuales presentan propiedades PGPR.

En cuanto al manejo de residuos, se expuso la importancia del reciclaje y su relevancia a la hora de mitigar el impacto en la naturaleza. Mediante la recolección de la materia orgánica como fuente primaria en la elaboración del biocompost se dio el entendimiento por parte la población de los residuos aprovechables. Se realizó la verificación de las condiciones del terreno para la construcción de la fosa techada para la elaboración del biocompost. Se estandarizó el protocolo de su creación por medio de la implementación y control de los parámetros variables, como la temperatura, humedad y luminosidad, puesto que con ello se establecieron las condiciones básicas y perennes en el control y reproducibilidad de los componentes biológicos del compost.

Referencias

- Adwitiya, D. & Venkatachalapathy, N. (2016). Profitable exploitation of coffee pulp- a review. *International Journal of Applied and Natural Sciences*, 5(1), 75-82.
- Agaras, B., Wall, L. G. & Valverde, C. (2012) Specific enumeration and analysis of the community structure of culturable pseudomonads in agricultural soils under no-till management in Argentina. *Applied Soil Ecology*, 61, 305-319. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.11.016>
- Almeida, A. A. P., Farah, A., Silva, D. A. M., Nunan, E. A. & Glória, B. A. (2006). Antibacterial activity of coffee extracts and selected coffee chemical compounds against Enterobacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(23), 8738- 8743. <https://www.doi.org/10.1021/jf0617317>
- Bhoite, R. N., Navya, P. N. & Murthy, P. S. (2013). Statistical optimization of bioprocess parameters for enhanced gallic acid production from coffee pulp tannins by *Penicillium verrucosum*. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 43(4), 350-363. <https://www.doi.org/10.1080/10826068.2012.737399>
- Coyne, M. (1999). *Soil microbiology: an exploratory approach*. Delmar Publishers.
- Farina, F. (2014). Caracterización de bacterias del género Pseudomonas antagonistas de hongos fitopatógenos [informe]. Seminario de investigación. Universidad Nacional de Quilmes, Argentina.
- Federación Nacional de Cafeteros (2020, 14 de enero). *Producción de café de Colombia*. <https://federaciondecafeteros.org/wp/listado-noticias/produccion-de-cafe-de-colombia-cerro-el-2019-en-148-millones-de-sacos/>

- Fernández-Aunión, C., Hamouda, T. B., Iglesias-Guerra, F., Argandona, M., Reina-Bueno, M, Nieto JJ, Aouani, M. E. & Vargas, C. (2013). Biosynthesis of compatible solutes in rhizobial strains isolated from *Phaseolus vulgaris* nodules in Tunisian fields. *BioMedCentral Microbiology*, (10). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-192>
- Lemus Angulo, J. A. (2019). *Multiplicación de Streptomyces sp. con propósitos de biocompostaje de subproductos de caña de azúcar* [trabajo de investigación]. Repositorio Universidad Libre. <https://hdl.handle.net/10901/17604>
- Murthy, P. S., Naidu, M. M. & Srinivas, P. (2009). Production of α -amylase under solid-state fermentation utilizing coffee waste. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 84(8), 1246-1249. <https://www.doi.org/10.1002/jctb.2142>
- Pathma J., Kennedy, R. K. & Sakthivel, N. (2011). Mechanisms of fluorescent *Pseudomonas* that mediate biological control of phytopathogens and plant growth promotion of crop plants (pp. 77-105). En D. K. Maheshwari (Ed.), *Bacteria in Agriobiology: planet growth responses*. Springer Berlin Heidelberg.
- Pushpa, S. M. (2011). *Biotechnological approaches to production of bioactives from coffee by-products* (tesis de doctorado). Universidad de Mysore. <http://ir.cftri.res.in/10749/>
- Urday-Cáceres, J. R. & Deroncele-Acosta, A. (2020). Aprendizaje significativo de la Microeconomía. *Anuario Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales*, 2(n. especial 2), 100-117.

Uso de harina de maíz reciclada para la elaboración de tortillas

Rocío de los Ángeles GARCÍA HERNÁNDEZ·

Bertha María Rocío HERNÁNDEZ SUÁREZ··

Victor Manuel RIVERA ARREDONDO··

Resumen

La generación constante de residuos alimentarios se ha convertido en un problema de salud, social, de alimentación sustentable, ambiental y económico. Diversos factores son causantes de este problema. Entre ellos destacan la sobreproducción, las bajas ventas, los malos hábitos de consumo, por mencionar algunos. En México la producción de alimentos es constante y variada. Va desde cereales, frutas, semillas, carnes, pescados hasta panes y tortillas. Estas últimas son de los alimentos ancestrales que acompañan nuestra genética gastronómica y que día con día aparecen en nuestras mesas. Un alimento como las tortillas necesita producirse en gran cantidad para satisfacer la demanda de consumo, sin embargo, mucho de este producto no se comercializa o no se consume a tiempo y cambia su apariencia, lo que obliga al productor y consumidor a dar un tratamiento, como el freído, venderlo para consumo animal o, en el peor de los casos, desecharlo.

Por todo lo anterior, en este trabajo se reciclaron tortillas duras y se convirtieron en harina de tortillas reciclada (HTR), que mezclada con harina nixtamalizada comercial, (HNC) se usaó para producir tortillas. El porcentaje total de HTR en la formulación de la tortilla fue 0, 20, 40, 60 y 80 %. Las tortillas del tratamiento T_{80} aumentaron la luminosidad respecto a T_0 . La humedad aumentó y la dureza disminuyó cuando la concentración porcentual de HTR aumentó. La adición de HTR tuvo un efecto nega-

· Doctorado, Facultad de Ciencias Químicas Xalapa, Universidad Veracruzana.

<https://orcid.org/0000-0003-4333-2657> | rocigarcia@uv.mx

·· Doctorado, Facultad de Ciencias Químicas Xalapa, Universidad Veracruzana, berthernandez@uv.mx

·· Doctorado, Facultad de Ciencias Químicas Xalapa, Universidad Veracruzana.

<https://orcid.org/0000-0003-0630-8404> | vicrivera@uv.mx

tivo sobre la digestibilidad del almidón. Aumentó la cantidad de almidón resistente y disminuyó el almidón de rápida y lenta digestión.

Palabras clave: tortillas, digestibilidad, textura, harina reciclada.

Introducción

El desperdicio de alimentos es un problema de creciente importancia con implicaciones para la seguridad alimentaria y la sostenibilidad. El aumento sostenido de la población con la demanda concomitante de productos alimenticios y el estilo de vida de alto consumo están provocando altos volúmenes de desperdicio de alimentos. Estos desechos ocurren en las diferentes etapas de la cadena de suministro, desde el productor hasta el consumidor, incluidas las fases de producción, almacenamiento, procesamiento, distribución y consumo.

Sumado a este orden de ideas, destaca que la tortilla de maíz es el alimento básico más difundido en México y que alcanza una producción estimada de alrededor de 10 millones de toneladas (*Excélsior*, 2022). No obstante, en años anteriores se desperdió alrededor del 28.7 % de la producción de tortilla de maíz, lo que corresponde a alrededor de 2.86 millones de toneladas (*El Universal*, 2018). El envejecimiento es la principal causa del deterioro de la tortilla de maíz. Sin embargo, se requiere un enfoque más sistemático para reinsertar los desechos de tortilla en la cadena de preparación de alimentos.

De acuerdo con algunos autores, en principio, los desechos de tortilla de maíz agregarían textura y reducirían la digestibilidad del almidón dada la naturaleza retrógrada del almidón rancio (Bello-Perez et al., 2020). Esto propone una idea importante e innovadora para el tratamiento de los residuos generados por el envejecimiento de las tortillas, que además de generar un producto funcional, estaría impactando en los siguientes objetivos del desarrollo sostenible de la Agenda 2030 de la ONU: 1. fin de la pobreza, 2. hambre cero, 3. salud y bienestar, 8. trabajo decente y crecimiento económico, 9. industria, innovación e infraestructura y 12. producción y consumo responsables

Los resultados en esta línea deberían contribuir a visualizar estrategias fiables para la gestión responsable de la producción y el consumo de alimentos dentro de una economía sostenible y circular.

Respecto al tema en específico, es nula la información disponible. La mayoría de los estudios sobre el desperdicio de alimentos se han centrado en la conversión de desechos en alimento para animales (Rajeh et al., 2021), producción de biocombustibles (Hafid et al., 2021) y degradación aeróbica/anaeróbica (Xu et al., 2018; Liu et al., 2022). Dichos enfoques tienen el potencial de reducir el impacto ambiental negativo del desperdicio de alimentos. Sin embargo, el problema subyacente de la producción y el consumo responsables de alimentos suele dejarse de lado.

En atención a este problema, Gelinas et al (1999) reportaron condiciones óptimas para la producción de masa madre a partir de residuos de pan que contienen azúcar. Samray et al (2019) utilizaron la migra de desperdicios de pan para la elaboración de snacks extruidos, y encontraron que la harina de desperdicios de pan conducía a una textura mejorada. Fernández-Peláez et al. (2021) caracterizaron las propiedades físicas de harinas obtenidas a partir de residuos de pan. Guerra-Oliveira et al. (2021) utilizaron harina de desecho de pan como sustituto de 50 % de la harina de trigo en formulaciones de galletas. Estos estudios pioneros han motivado crecientes esfuerzos de investigación centrados en mejorar los métodos para la preparación de alimentos que contienen residuos alimentarios.

Con relación a la tortilla, está reportado que los desechos de tortilla de maíz agregarían textura y reducirían la digestibilidad del almidón dada la naturaleza retrógrada del almidón rancio (Bello-Perez et al., 2020). Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto de la sustitución parcial de harina comercial de maíz nixtamalizada por harina de tortilla reciclada, sobre el color, humedad, dureza y digestibilidad *in vitro* de las tortillas frescas.

Metodología

Materiales

Generalidades

La experimentación se llevó a cabo en los laboratorios de la Facultad de Nutrición de la Región Veracruz y en el laboratorio multidisciplinar de la Facultad de Ciencias Químicas Región Xalapa, ambas instancias pertenecientes a la Universidad Veracruzana. El periodo de experimentación

fue entre los meses de enero a junio de 2022. Para elaborar las tortillas se utilizó harina nixtamalizada comercial (HNC) de la marca Maseca que se compró en el supermercado Walmart. Se utilizó agua purificada para todos los experimentos.

Métodos

Elaboración de la harina de tortilla reciclada (HTR)

Las tortillas fueron compradas en el supermercado Walmart inmediatamente después que se habían fabricado. Se compraron durante dos semanas en diferentes días. Fueron puestas en papel aluminio y se dejaron secar a temperatura ambiente durante 5 días. Posteriormente, se molieron y se pasaron a través de un tamiz No. 70 para obtener la harina de tortilla reciclada (HTR).

Elaboración de la tortilla

El procedimiento tradicional para preparar la masa toma en cuenta el agua (600g/kg) y la HNC (400g/kg), los cuales se mezclaron y amasaron durante 5 minutos en la velocidad 3 de una batidora de pie con cabezal basculante marca Costway 7.5QT (Ontario, Canadá), equipada con el brazo para masa.

Las variaciones en la preparación de la masa fueron sustituyendo la HNC por HTR en 0 (T0), 20 (T20), 40 (T40), 60 (T60) y 80 % (t80). De la masa preparada se hicieron porciones (bolitas) de 35 ± 0.1 g y se prensaron en una maquina tortilladora hasta obtener un diámetro de 14 cm y un espesor de 2 mm. Posteriormente se pusieron en una parrilla eléctrica (IKA, modelo C-MAG HS, Wilmington, EUA) a 350 °C por 45 segundos. Pasado este tiempo se les dio la vuelta y se cocieron hasta que se inflaron (aproximadamente 15 segundos). Las tortillas se dejaron enfriar en condiciones de laboratorio (~20 °C, 53 % humedad relativa) durante 10 minutos, y posteriormente se guardaron de forma individual en bolsas de plástico en el refrigerador hasta su uso.

Medición de color

Los parámetros de color en la escala CIE-Lab (L^* , a^* , b^* y ΔE) de las tortillas fueron determinados por mediciones de reflectancia de luz con un colorímetro (Konica Minolta, CR-300, Osaka, Japón). El equipo fue calibrado con un standard blanco ($L^*= 97.39$, $a^*= 0.01$ y $b^*= 1.54$) y fijado para el iluminante D65 en un ángulo de observación de 2° (Alvarez-Ramirez et al., 2018).

Determinación de humedad

La determinación de humedad se hizo de acuerdo con lo establecido en la NOM-116SSA1-1994 (Diario Oficial de la Federación, 2018).

Determinación de dureza

Para la determinación de dureza se utilizó un texturómetro mecánico (Brookfield, ct34500, Middleborough, EUA) equipado con la geometría TA18 de 1.27 cm de diámetro. La dureza de la tortilla fue expresada como la fuerza necesaria para penetrar la tortilla. Las condiciones de la medición fueron: velocidad 1 mm/s hasta que el 50 % de penetración fue alcanzado (Vernon-Carter et al., 2020).

Digestibilidad in vitro

La digestibilidad se midió utilizando el método de Englyst et al. (1992). Las muestras (2 g) fueron incubadas a 37 °C por 120 minutos con las enzimas pancreatina porcina (300 IU/mL, P1750, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA) y amiloglucosidasa (95 IU/mL, P1750, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EUA).

La clasificación del almidón fue basada en la tasa de hidrólisis. Considerando que el almidón de rápida digestión (ARD) fue digerido en los primeros 20 minutos, el almidón de lenta digestión (ADL) lo hizo entre 20 y 120 minutos, y el almidón resistente (AR) fue tomado como indigerible después de 120 minutos.

Análisis estadístico

Todos los experimentos fueron realizados por triplicado y el análisis estadístico de los resultados se sometió a un análisis de varianza y comparación de medias por Tukey ($p \leq 0.05$) usando el programa Minitab 17. Los datos son reportados como medias \pm desviación estándar.

Resultados y discusión

Color

La luminosidad de las tortillas disminuyó con la adición de la HTR, con valores del orden de 85.97 para T0 y 64.26 para T80. En cambio, los parámetros de color a^* y b^* aumentaron con la HTR. Guerra-Oliveira et al. (2021) obtuvieron resultados similares para galletas elaboradas con harina de desecho de pan. Atribuyeron el efecto de las reacciones de pardeamiento en las cadenas de amilosa lixiviadas disponibles en la harina reciclada.

Al respecto, se incrementó el enrojecimiento y el amarilleo de las tortillas (figura 1) por efecto del pardeamiento de las cadenas libres de amilosa disponibles en la harina de tortilla reciclada. En este mismo sentido, el único tratamiento que no mostró diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el valor de ΔE respecto al control (T0) fue el T20. Sin embargo, en la figura 1 se observa que no hay un cambio notable en la apariencia de las tortillas finales, lo que puede ayudar a que el consumidor no detecte el uso de HTR. Esta percepción puede ayudar a la aceptación del producto entre los consumidores, ya que, aunque se tenga un producto de muy alta calidad nutricional, si no se tienen las características físicas y sensoriales iguales a las que el consumidor conoce, el producto generado no tendrá futuro en el mercado.

Figura 1. Fotografías de las variaciones de tortillas (Tx) con diferente contenido de harina de desecho de tortilla reciclada



Elaboración propia.

Humedad y dureza

La tabla 1 muestra que el contenido de humedad de las tortillas aumentó con la adición de HTR, de alrededor de 39.36g/100 g para el control T0 a 48.32g/100 g para t80. Según lo informado por Fernández-Peláez et al. (2021), para pan blanco que contiene harina de desecho de pan reciclado, el mayor contenido de humedad puede atribuirse a la gelatinización de los gránulos de almidón inducida por el período de horneado. Las cadenas de amilosa lixiviadas se dispersan en la masa de la tortilla, con lo que aumenta la capacidad de la estructura para retener agua.

La dureza de la tortilla mostró una marcada disminución con la adición de htr, lo que está relacionado con el mayor contenido de humedad. La dureza para el control T0 fue de 2.01 n (newtons) y disminuyó a alrededor de 1.01 n para t80. En los análisis de dureza después de 5 días (no reportados en este trabajo), no se observaron cambios significativos respecto a la tendencia que se muestra en la tabla 1. Esto es indicio de que la sustitución de HCN por HRT es además una opción para aumentar la vida de anaquel de las tortillas.

Tabla 2. Características de las variaciones de tortilla (Tx) con diferente contenido de HTR

Tortilla	Contenido de humedad (%)	Dureza (N)	L*	a*	b*	ΔE
T0	39.96 ± 0.56 ^a	2.01 ± 0.56 ^a	85.97 ± 0.63d	1.12 ± 0.63d	28.27 ± 0.63d	0c
T20	42.09 ± 0.47b	1.35 ± 0.47b	79.44 ± 0.69bc	1.32 ± 0.69bc	31.32 ± 0.69bc	3.45 ± 0.45cb
T40	43.73 ± 0.56b	1.18 ± 0.56b	76.79 ± 0.57c	1.87 ± 0.57c	39.51 ± 0.57c	11.4 ± 1.33b
T60	46.87 ± 0.53b	1.08 ± 0.53b	67.86 ± 0.62b	2.26 ± 0.62b	53.23 ± 0.62b	25.07 ± 1.57a
T80	48.32 ± 0.01 ^a	1.01 ± 0.01c	64.26 ± 0.01a	2.97 ± 0.01a	61.26 ± 0.01a	33.11 ± 3.24a

Elaboración propia.

Los valores se reportan como media ± desviación estándar. Las columnas con letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Digestibilidad

La figura 2 exhibe la cinética de la hidrólisis enzimática para las diferentes variaciones de tortilla. La adición de la HTR tuvo un efecto negativo en la digestibilidad *in vitro* del almidón. La hidrólisis máxima después de 160 minutos fue de alrededor de 78 % para la tortilla de control T0 y disminuyó a alrededor del 45 % para la tortilla que contenía 80 % de HTR.

El envejecimiento de la tortilla implica la retrogradación de las cadenas de amilopectina, que limitan la acción de las enzimas amilolíticas (Wang et al., 2015). Particularmente, las velocidades de hidrólisis supuestamente rápidas y lentas no mostraron diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$). Esto significa que la hidrólisis enzimática antes y después del tiempo de transición se realizó a velocidades similares. La inflexión en la curva de hidrólisis podría estar reflejando una transición estructural cuando la estructura de las partículas de tortilla fue alterada por la acción de las enzimas amilolíticas. La adición HTR tuvo un efecto notorio en la tasa de hidrólisis al pasar de aproximadamente 4.96×10^{-2} min⁻¹ para la tortilla de control T0 a aproximadamente 3.42×10^{-2} min⁻¹ para T80. Es decir, la adición de la HTR redujo la velocidad a la que se hidrolizaba el almidón.

El almidón retrógrado exhibe una disminución significativa en la digestibilidad *in vitro* debido a un empaquetamiento compacto de estructuras de amilosa de doble y triple hélice (Bello-Perez et al., 2020). La tabla 2 muestra la distribución del almidón digerible en términos de la clasifi-

cación de Englyst et al. (1992). Las fracciones ARD y ALD disminuyeron con la adición de la HTR, con valores que van desde 22.67 y 55.55 % para la tortilla control T0 hasta alrededor de 6.69 y 41.54 % para T80. En cambio, la fracción AR aumentó del 21.78 % (T0) al 51.77 % (T80). Los resultados indican que la sustitución de HCN por HRT puede dar como resultado un producto que además de nutrir presentaría un efecto funcional para la salud de los consumidores.

Tabla 2. Fracción de almidón digerible según la clasificación de Englyst et al. (1992), para las variaciones de tortilla (Tx) con diferente contenido de HTR

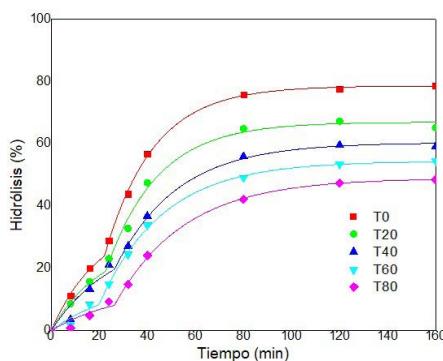
Tortilla	ARD (%)	ALD (%)	AR (%)
T0	22.67 ± 1.21a	55.55 ± 0.47a	21.78 ± 0.45e
T20	18.05 ± 0.87b	49.09 ± 0.36b	33.77 ± 0.36d
T40	16.62 ± 0.75bc	42.92 ± 0.38c	40.46 ± 0.48c
T60	9.53 ± 0.33d	43.48 ± 0.69c	46.99 ± 0.69b
T80	6.69 ± 0.24e	41.54 ± 0.77cd	51.77 ± 0.77a

Elaboración propia.

Los valores se reportan como media ± desviación estándar. Las columnas con letras minúsculas indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

ARD: almidón de rápida digestión; ALD: almidón de lenta digestión; AR: almidón resistente.

Figura 2. Cinética de hidrólisis del almidón para las variaciones de tortilla fresca (Tx) con diferente cantidad de HTR



Elaboración propia.

Conclusiones

El presente trabajo es parte de una investigación que busca opciones para producir nuevos alimentos de forma sustentable. Después de analizar y discutir los resultados es posible decir que la sustitución de harina comercial nixtamalizada por harina de tortilla reciclada es una alternativa para producir tortillas a bajo costo, pues mantiene las características de textura, aumenta la vida de anaquel, reduce los almidones de rápida y lenta digestión y aumenta la cantidad de almidones resistentes presentes en el producto final. Por todo lo anterior, se puede afirmar que este tipo de procesos impacta positivamente en la Agenda 2030 de la ONU, específicamente en los objetivos de sustentabilidad, reducción de la pobreza y alimentación.

Referencias

- Alvarez-Ramirez, J., Vernon-Carter, E. J., Carrillo-Navas, H. & Meraz, M. (2018). Effects of cooking temperature and time on the color, morphology, crystallinity, thermal properties, starch-lipid complexes formation and rheological properties of roux. *LWT-Food Science and Technology*, 91, 203-212. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.038>
- Bello-Perez, L. A., Flores-Silva, P. C., Agama-Acevedo, E. & Tovar, J. (2020). Starch digestibility: past, present, and future. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(14), 5009-5016. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8955>
- Diario Oficial de la Federación (2018). Norma Oficial Mexicana (NOM-116-SSA1-1994). Bienes y servicios. Determinación de humedad en alimentos por tratamiento térmico. Método por arena o gasa. Ciudad de México a 29 de junio de 1995.
- El Universal (2018, 2 de enero). Tortilla, sube de precio y es la comida más desperdiciada. <https://www.eluniversal.com.mx/nacion/sociedad/tortilla-sube-de-precio-y-es-la-comida-mas-desperdiciada>
- Englyst, H. N., Kingman, S. M. & Cummings, J. H. (1992), Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*, 46, 33-50.
- Excélsior (2022, 10 de octubre). Más del 70 % de tortillas son con nixtamalización o masa de maíz. <https://www.excelsior.com.mx/nacional/mas-del-70-de-tortillas-son-con-nixtamalizacion-o-masa-de-maiz/1544629>

- Fernández-Peláez, J., Guerra, P., Gallego, C. & Gómez, M. (2021). Physical properties of flours obtained from wasted bread crusts and crumbs. *Foods*, 10(2). <https://doi.org/10.3390%2Ffoods10020282>
- Gelinas, P., McKinnon, C. M. & Pelletier, M. (1999). Sourdough-type bread from waste bread crumb. *Food Microbiology*, 16(1), 37-43. <https://doi.org/10.1006/fmic.1998.0209>
- Guerra-Oliveira, P., Belorio, M. & Gómez, M., (2021), Waste bread as main ingredient for cookie elaboration. *Foods*, 10(8). <https://doi.org/10.3390/foods10081759>
- Hafid, H. S., Omar, F. N., Abdul Rahman, N. A. & Wakisaka, M. (2021), Innovative conversion of food waste into biofuel in integrated waste management system. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 52(19), 3453-349. <https://doi.org/10.1080/10643389.2021.1923976>
- Liu, D., Ma, X., Huang, J., Shu, Z., Chu, X., Li, Y. & Jin, Y. (2022). Investigation of the aerobic Biochemical treatment of food waste: a case study in Zhejiang and Jiangsu provinces in China. *Science of the Total Environment*, 806, parte 1. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150414>
- Rajeh, C., Saoud, I. P., Kharroubi, S., Naalbandian, S. & Abiad, M. G. (2021), Food loss and food waste recovery as animal feed: a systematic review. *Journal of Material Cycles and Waste*, 23, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s10163-020-01102-6>
- Samray, M. N., Masatcioglu, T. M. & Koksel, H. (2019). Bread crumbs extrudates: a new approach for reducing bread waste. *Journal of Cereal Science*, 85, 130-136. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.12.005>
- Vernon-Carter, E. J., Alvarez-Ramirez, J., Meraz, M., Bello-Perez, L. A. & Garcia-Diaz, S. (2020). Canola oil/candelilla wax oleogel improves texture, retards staling and reduces *in vitro* starch digestibility of maize tortillas. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(3), 1238-1245. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10135>
- Wang, S., Li, C., Copeland, L., Niu, Q. & Wang, S. (2015). Starch retrogradation: a comprehensive review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5), 568-585. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12143>
- Xu, F., Li, Y., Ge, X., Yang, L. & Li, Y. (2018). Anaerobic digestion of food waste – Challenges and opportunities. *Bioresource Technology*, 247, 1047-1058. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.020>

Uso de oleogeles para la sustitución de grasas hidrogenadas en la elaboración de pan

César Alberto ROLDÁN CRUZ-

Carolina PALMEROS EXSOME..

Gabriela BLASCO LÓPEZ...

Rosario Adriana REYES Díaz....

Luis Alberto GONZÁLEZ ORTEGA.....

Resumen

Pocos alimentos tienen una relación tan estrecha con las mesas de familias mexicanas como el pan. En México el consumo de pan es elevado; se distingue como el octavo mercado mundial para productos de la industria de la panificación.

Uno de los ingredientes indispensables en la elaboración de pan son las grasas que ayudan a aumentar el volumen de la masa, así como a darle una apariencia brillante. Estas grasas son ricas en ácidos grasos saturados, y en ocasiones también contienen ácidos grasos trans. Las más empleadas son las grasas hidrogenadas. Una solución para reducir el impacto negativo de este ingrediente es el uso de nuevas matrices, por ejemplo, los oleogeles, los cuales son mezclas de ceras y aceites para formar estructuras semisólidas.

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue remplazar parcial o totalmente la mantequilla por un oleogel de cera de abeja-aceite de canola en 0, 20, 40, 60, 80 y 100 %. La adición de oleogel en los panes a partir de 40 % mejoró la textura y redujo la dureza. El contenido de humedad disminuyó cuando la concentración del oleogel aumentó. Las pruebas de

· Doctorado en Biotecnología, Facultad de Nutrición Región Veracruz (FNRV), Universidad Veracruzana (uv).
<https://orcid.org/0000-0002-8992-8176> | croldan@uv.mx

.. Doctorado en Nutrición, Facultad de Nutrición Región Veracruz, uv. <https://orcid.org/0000-0002-1608-6094> | cpalmeros@uv.mx

... Doctorado en Ciencias de los Alimentos, FNRV, uv. <https://orcid.org/0000-0001-5045-4164> | gblasco@uv.mx

.... Doctorado en Administración Pública y Gobierno, FNRV, uv. <https://orcid.org/0000-0002-7007-7543> | rosareyes@uv.mx

..... Maestría en Ingeniería Bioquímica, FNRV, uv. <https://orcid.org/0000-0001-8820-542X> | luisgonzalez04@uv.mx

estabilidad microbiológica demostraron que las formulaciones con oleogel tuvieron mayor duración.

Palabras clave: oleogel, grasas trans, pan, textura.

Introducción

Las grasas sólidas —mantequilla, margarina y grasa vegetal— son usadas con frecuencia en la industria del pan para otorgar al producto características texturales y sensoriales específicas, al igual que para incrementar la vida de anaquel. Comúnmente, estas grasas se componen de grandes fracciones de ácidos grasos saturados y trans. Estos componentes han sido etiquetados como ingredientes alimentarios no deseados debido a los efectos negativos para la salud humana, incluidos los altos niveles de lipoproteínas de baja densidad que causan aumento del colesterol o aterosclerosis (Morio et al., 2016). Se ha destacado que las lipoproteínas de baja densidad son el objetivo principal para la reducción de una diversidad de problemas relacionados con la enfermedad llamada Síndrome metabólico (Wadhera et al., 2016).

En este sentido, una estrategia adecuada es reducir la ingesta de productos alimenticios con altos niveles de ácidos grasos saturados y trans. Como posible solución está la sustitución de las grasas sólidas basadas en grasas saturadas por otras basadas en grasas insaturadas, que son menos perniciosas para la salud humana. Una generalidad es que las grasas insaturadas están presentes en fase líquida en condiciones ambientales. Esta característica impone algunas dificultades para la incorporación de grasas insaturadas en productos alimenticios (Makarewicz-Wujec et al., 2018). Por ejemplo, los aceites fluidos dan lugar a algunas características texturales y sensoriales negativas en los productos de pan, como pegajosidad y palatabilidad aceitosa.

El enfoque para lograr esto es convertir el aceite líquido en un material similar a un gel, sin modificar las características químicas del aceite. Esta estructuración se logra mediante ensamblajes supramoleculares, generalmente moléculas gelificantes, que atrapan grandes cantidades de aceite en una estructura similar a un gel, lo que da como resultado una red de gel tridimensional, termorreversible y autónoma con propiedades viscoelásticas robustas llamados oleogeles. Estos se han estudiado ampliamente como

estructuras para mejorar diversas matrices alimentarias, debido a que pueden manipularse fácilmente para su incorporación en la preparación de productos alimenticios, incluidos helados, salchichas cocidas y galletas.

Se han explorado como oleogelificantes diversos materiales comestibles, como gliceroles, ácidos grasos y alcoholes, ceras, monoestearato de sorbitán, mezclas de ácidos grasos y alcoholes, triestearato de sorbitán, lecitina, orizanol y etilcelulosa o mezclas multicomponentes de los mismos (Davidovich-Pinhas et al., 2016).

En los últimos años se ha informado sobre la aplicación de oleogeles en alimentos. Los productos de panadería en los que se reemplazó entre un 15 y un 45 % de manteca vegetal por oleogel a base de cera de abeja produjeron propiedades comparables a las de los productos originales (Demirkesen & Mert, 2019a).

Recientemente, se publicó una excelente descripción general de las funciones de la manteca vegetal en productos de panadería (Demirkesen & Mert, 2019b). Kim et al. (2017) descubrieron que reemplazar la manteca hasta en un 25 % con oleogeles de aceite de canola/cera de carnauba producía panes con niveles más bajos de ácidos grasos saturados sin pérdida de calidad. El reemplazo de la margarina comercial por oleogeles produjo *muffins* con mejor untabilidad, mayor volumen específico, valores de dureza similares y una estructura de migas más conectada y homogénea (Giacomozzi et al., 2018).

También se encontró que los oleogeles a base de estearoil lactilato imitaron la funcionalidad típica de las estructuras de red cristalina formadas por triacilglicerol en productos de pan (Meng et al., 2019). Además, los oleogeles de etilcelulosa pueden producir panes con una textura blanda estable (Ye et al., 2019). Por otro lado, los panes tipo mantecada mejoraron sus características texturales y redujeron su digestibilidad cuando se sustituyó la grasa vegetal por oleogel aceite de canola-cera de candelilla (Alvarez-Ramirez et al., 2020). En este sentido, el uso de oleogeles en la industria del pan tiene gran relevancia, toda vez que los estudios han demostrado la factibilidad tecnológica para ser empleados. Sin embargo, aún no se ha reportado el impacto que estas estructuras tienen sobre la estabilidad microbiológica de los productos finales.

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue elaborar un pan tipo concha con la sustitución parcial o total de las grasas sólidas por oleogeles

y evaluar el efecto de estos sobre la textura, composición bromatológica y estabilidad microbiana.

Metodología

Materiales

Se utilizó harina de trigo (marca La moderna, de México), levadura (Tradi Pan, Grupo Lesaffre, México), sal yodada (Chedraui, México), azúcar estándar (Chedraui, México), huevo (El calvario, México), esencia de vainilla (D'Gari, México), margarina (Flex, Unilever, México), cera de abeja y aceite de canola (Nutrioli, México).

Los experimentos se llevaron a cabo en el laboratorio de Fisicoquímica de Alimentos de la Facultad de Nutrición de la Universidad Veracruzana en la ciudad de Veracruz, Veracruz, durante el periodo febrero-mayo 2022 a una humedad controlada de 60 % y a una temperatura promedio de 22 °C.

Métodos

Elaboración del oleogel

Para la preparación del oleogel, la cera de abeja (5 % p/v) fue adicionada a aceite de canola (95 % p/v). La mezcla fue calentada por debajo del punto de humo del aceite con agitación constante (120 revoluciones por minuto [rpm]) por 15 minutos. Posteriormente, se dejó reposar toda la noche a temperatura ambiente. La sustitución de grasa por oleogel se hizo en relación 0, 20, 40, 60, 80 y 100 %. Se codificaron los tratamientos como T_x , donde el subíndice x, representaba el porcentaje de sustitución. El oleogel, después de este periodo, se sometió a cuatro ciclos de calentamiento-enfriamiento para validar su reestructuración.

Preparación del pan

Se hizo de acuerdo con la metodología reportada por Alvarez-Ramirez et al. (2020) con ligeras modificaciones. Se añadió levadura (11 gramos [g]) y azúcar (5 g) a 45 mililitros (mL) de leche (43 °C por 10 minutos). Para la masa, se mezcló harina de trigo (15 % p/p), grasa (margarina u oleogel

20 % p/p), huevo (35 % p/p), esencia de vainilla (4 % p/p), azúcar (25 % p/p), sal (1 % p/p) y la levadura previamente activada.

La masa se dejó fermentar durante 2 horas (h) a 38 °C. Luego se dividió en porciones de 60 g, las cuales se colocaron en una charola engrasada, dejando espacios suficientes entre cada porción. Posteriormente, se hornearon por 20 minutos a 250 °C. Una vez terminado el tiempo se retiró y dejó enfriar.

Análisis de Perfil de Textura (ATP)

Se colocaron piezas completas (largo=100 milímetros [mm]; ancho=25 mm, alto=40 mm) de pan debajo de la sonda del texturómetro (Brookfield CT3 4500, M.A., EUA.). Se programó la medición en modalidad ATP, con dos ciclos a 1 mm/s, carga 0.5 n, porcentaje de penetración 35 % (Alvarez-Ramirez et al., 2020).

Análisis bromatológicos

Humedad, cenizas, lípidos, proteínas y fibra fueron determinados conforme a lo establecido por la NOM-086-SSA1-1994 (Diario Oficial de la Federación, 1996). Los carbohidratos se calcularon por diferencia. A excepción de la humedad, todos los parámetros se reportan en base seca.

Estabilidad microbiológica

El contenido total de mesófilos (bacterias viables totales) y de hongos (conteo de levaduras y mohos) fueron analizados en las muestras de pan para determinar la carga microbiana de acuerdo con lo descrito por la American Public Health Association (2001). Las muestras —tras cinco días de añejamiento— se machacaron y mezclaron en agua peptonada. Se diluyó decimalmente la muestra y se extendieron alícuotas de 0.1 mL en agar nutritivo, agar MacConkey y agar de papa-dextrosa, para la cuantificación de bacterias aeróbicas viables, coliformes totales y hongos, respectivamente.

Las muestras de agar nutritivo y agar MacConkey fueron incubadas a 37 °C por 24-48 h, mientras que el agar papa-dextrosa se mantuvo a 22 °C

de 3 a 5 días. Finalmente, los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g).

Análisis estadístico

Todos los experimentos fueron realizados por triplicado, y el análisis estadístico de los resultados se sometió a un análisis de varianza y comparación de medias por Tukey usando el programa Minitab 17. Los datos son reportados como medias ± desviación estándar ($p \leq 0.05$).

Resultados y discusión

Análisis de perfil de textura

Resulta importante mencionar que la Administración de Alimentos y Medicamentos (Food and Drug Administration [FDA], 1973), en el Código de Regulaciones Federales, título 21, menciona que es segura la implementación de cera de abaja en matrices alimentarias variando las concentraciones respecto al tipo de alimento elaborado.

La textura se considera un factor muy importante para la aceptabilidad por parte del consumidor de productos horneados. En este sentido, en la tabla 1 se muestran las mediciones realizadas a las conchas. Es posible observar que la dureza disminuyó significativamente ($p \leq 0.05$) con la adición del oleogel, debido posiblemente a una estructuración más compacta de la costra de la concha y con ello a un aumento en la retención de agua (Sabanis et al., 2009).

La adhesividad, cohesividad y masticabilidad aumentaron cuando la concentración de oleogel aumentó en la formulación, sin embargo, solo se encontraron diferencias estadísticas a partir de la formulación t60. Estudios previos mostraron que la adición de oleogel mejora las propiedades de pan dulce (Jung et al., 2020). Estos resultados pueden deberse a la fuerza que imparte el oleogel en la matriz del pan por la interacción con carbohidratos. A mayor concentración de oleogel, mayor fuerza de interacción entre lípidos y carbohidratos. Aunque el análisis del perfil de textura arroja información precisa, es necesario complementarlo con pruebas de evaluación sensorial para verificar el efecto del oleogel sobre las características esperadas por los consumidores en el producto final.

Tabla 1. Parámetros de textura de las conchas con diferentes concentraciones de oleogel

Tratamiento	Dureza (N)	Adhesividad x 101 (mJ)	Cohesividad x 101 (-)	Masticabilidad (N)
T0	29.61 ± 1.43a	1.81 ± 0.23 ^a	3.92 ± 0.23 ^a	48.64 ± 1.23a
T20	25.22 ± 1.62ab	2.13 ± 0.24 ^a	4.29 ± 0.17 ^a	51.71 ± 1.01a
T40	24.09 ± 0.87b	2.54 ± 0.11b	4.73 ± 0.10b	53.34 ± 1.17b
T60	21.65 ± 1.01b	2.91 ± 0.65b	4.69 ± 0.05b	58.15 ± 0.72c
T80	17.98 ± 1.48bc	3.48 ± 0.29c	4.98 ± 0.19b	61.33 ± 1.29c
T100	15.39 ± 1.65c	5.10 ± 0.33d	5.06 ± 0.25b	69.31 ± 1.33d

Elaboración propia basada en análisis realizados.

Los valores se reportan como media ± desviación estándar. Las columnas con letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$).

Bromatológicos

Los valores obtenidos en los análisis bromatológicos mostraron que la humedad aumentó significativamente a partir del tratamiento T₆₀. Se presentó un incremento de ~110 % en el tratamiento T₁₀₀ respecto al control (T₀). Esto puede deberse a que la estructura tridimensional de los oleogelos permite mantener el agua en la miga de los panes, haciendo que estos sufran cambios en el arreglo de la matriz. Estos resultados pueden ser la explicación al comportamiento decreciente de la dureza cuando aumenta la concentración del oleogel en la matriz alimenticia estudiada.

Por otro lado, el contenido de lípidos y proteínas no muestra un cambio significativo ($p \leq 0.05$) al incrementar la concentración de oleogel. Este comportamiento puede explicarse debido a que los ingredientes de la formulación no sufren cambios respecto a estos bioelementos. Para tener un panorama completo del efecto del oleogel en la estructura del pan, son necesarios análisis más específicos, por ejemplo, un perfil lipídico. Lo anterior debido a que, si bien no hay un cambio en la cuantificación de estos biopolímeros, es posible que haya una modificación de la estructura química.

Por otro lado, un comportamiento distinto se encontró para cenizas, fibra y carbohidratos. El aumento sostenido en el porcentaje de cenizas podría tener explicación en que la cera de abeja contenga algunos ele-

mentos minerales, mientras que el comportamiento de la fibra puede ser debido a la interacción generada entre lípidos y carbohidratos, lo que lleva a que estos últimos sean menos digeribles y que dentro del análisis se reflejen como fibra. Esto mismo explicaría la disminución del contenido de carbohidratos (tabla 2). Estudios de digestibilidad son necesarios para validar estos supuestos.

Tabla 2. Parámetros bromatológicos de los panes con diferentes tratamientos.

Parámetro (%)	T0	T20	T40	T60	T80	T100
Humedad	19.1± 0.2a	19.8± 0.4a	20.5± 1.1a	29.7± 1.0b	36.4± 1.6c	48.6 ± 2.3d
Cenizas	2.1± 0.1a	1.8± 0.0 a	2.0± 0.1a	2.4± 0.2a	2.8± 0.1a	3.1± 0.2b
Lípidos	28.2± 1.5a	28.5± 1.1a	28.4± 1.1a	29.1± 1.4a	29.3± 0.9a	30.2± 0.5a
Proteínas	15.6± 0.7a	15.3± 1.0a	15.6± 1.0a	16.7± 0.9a	16.7± 0.8 a	16.6± 0.6a
Fibra	4.1± 0.2 ^a	4.2± 0.2a	4.0± 0.9a	4.8± 0.5 ^a	5.1± 0.9 a	6.2± 0.7b
Carbohidratos	50.1± 1.7a	50.2± 2.1a	49.8± 1.8 a	46.9± 2.2a	46.1± 1.2b	43.9± 1.6b

Elaboración propia basada en análisis realizados.

Los valores se reportan como media ± desviación estándar. Las filas con letras minúsculas diferentes indican diferencias significativas ($p \leq 0.05$) con la prueba de comparación de medias Tukey.

Estabilidad microbiana

El conteo para bacterias viables va desde 2.8×10^5 para T₀ hasta 6.6×10^3 UFC para el tratamiento T₆₀. Respecto a coliformes totales, en ninguno de los tratamientos fueron encontrados. En el caso de los hongos, su presencia disminuyó ~90 % cuando la concentración del oleogel fue de 60 % del total de la grasa, sin embargo, cuando la concentración fue superior a este porcentaje no se detectó crecimiento de hongos (tabla 3). Dichos microorganismos son propios en la descomposición del pan, provenientes de la manipulación o por estar presentes en la materia prima. El oleogel puede estar inhibiendo el crecimiento de bacterias y hongos debido a la presencia de ácidos grasos de cadena larga presentes en la cera y al efecto ácido de los lípidos del aceite. Un comportamiento similar se observó en el trabajo de Darughe et al. (2012).

Tabla 3. Conteo de la carga microbiana en panes respecto a la concentración de oleogeles

Tratamiento	Bacterias (UFC/g)	Coliformes totales (UFC/g)	Hongos (UFC/g)
T0	2.8 x 105	N.D.	3.1 x 103
T20	5.2 x 104	N.D.	9.4 x 102
T60	6.6 x 103	N.D.	1.3 x 102
T80	8.2 x 103	N.D.	N.D.
T100	7.3 x 105	N.D.	N.D.

Elaboración propia basada en análisis realizados.

N.D: elementos no detectados.

Conclusiones

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran que la sustitución parcial o total de grasas hidrogenadas por oleogels de cera de abeja-aceite de canola reducen la dureza del pan, mejoran las características texturales, no afectan los parámetros bromatológicos y aumentan la vida útil de este respecto la carga de bacterias viables y hongos. Con los resultados obtenidos se propone hacer estudios cualitativos para fortalecer la idea de que la sustitución de grasas por oleogels es un camino viable para la industria de alimentos, y al mismo tiempo se propone generar la normativa que regule su uso.

Referencias

- American Public Health Association (2001). *Compadium of methods for the microbiological examination of foods* (4th edition).
- Alvarez-Ramirez, J., Vernon-Carter, E. J., Carrera-Tarela, Y., Garcia, A. & Roldan-Cruz, C. (2020). Effects of candelilla wax/canola oil oleogel on the rheology, texture, thermal properties and in vitro starch digestibility of wheat sponge cake bread. *LWT-Food Science and Technology*, 130. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109701>
- Darughe, F., Barzegar, M. & Sahari, M. A. (2012). Antioxidant and antifungal activity of Coriander (*Coriandrum sativum L.*) essential oil in cake. *International Food Research Journal*, 19(3), 1253-1260.

- Davidovich-Pinhas, M., Barbut, S. & Marangoni, A.G. (2016). Development, characterization, and utilization of food-grade polymer oleogels. *Annual Review of Food Science and Technology*, 7, 65-91. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-041715-033225>
- Demirkesen, I. & Mert, B. (2019a). Utilization of beeswax oleogel-shortening mixtures in gluten-free bakery products. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 96(5), 545-554. <https://doi.org/10.1002/aocs.12195>
- . (2019b). Recent developments of oleogel utilizations in bakery products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(14) 1-20. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1649243>
- Food and Drug Administration (1973). *CFR-Code of Federal Regulations, title 21*. CFR - Code of Federal Regulations Title 21 (fda.gov).
- Giacomozzi, A. S., Carrín, M. E. & Palla, C. A. (2018). Muffins elaborated with optimized monoglycerides oleogels: from solid fat replacer obtention to product quality evaluation. *Journal of Food Science*, 83(6), 1505-1515. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14174>
- Jung, D., Oh, I., Lee, J. & Lee, S. (2020). Utilization of butter and oleogel blends in sweet pan bread for saturated fat reduction: dough rheology and baking performance. *LWT-Food Science and Technology*, 125. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109194>
- Kim, J. Y., Lim, J., Lee, J., Hwang, H. S. & Lee, S. (2017). Utilization of oleogels as a replacement for solid fat in aerated baked goods: physicochemical, rheological, and tomographic characterization. *Journal of Food Science*, 82(2), 445-452. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13583>
- Makarewicz-Wujec, M., Dworakowska, A. & Kozłowska-Wojciechowska, M. (2018). Replacement of saturated and *trans*-fatty acids in the diet v. CVD risk in the light of the most recent studies. *Public Health Nutrition*, 21(12), 2291-2300. <https://doi.org/10.1017/S1368980018000782>
- Meng, Z., Guo, Y., Wang, Y. & Liu, Y. (2019). Oleogels from sodium stearoyl lactylate-based lamellar crystals: structural characterization and bread application. *Food Chemistry*, 292, 134-142. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.11.042>
- Morio, B., Fardet, A., Legrand, P. & Lecerf, J. M. (2016). Involvement of dietary saturated fats, from all sources or of dairy origin only, in insulin resistance and type 2 diabetes. *Nutrition Reviews*, 74(1), 33-47. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuv043>

- Sabanis, D., Lebesi, D. & Tzia, C. (2009). Effect of dietary fibre enrichment on selected properties of gluten-free bread. *LWT-Food Science and Technology*, 42(8), 1380-1389. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.03.010>
- Diario Oficial de la Federación (1996, 26 de junio). *Norma Oficial Mexicana nom-086-SSA1-1994, Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. Especificaciones nutrimentales.* https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4890075&fecha=26/06/1996#gsc.tab=0
- Wadhera, R. K., Steen, D. L., Khan, I., Giugliano, R. P. & Foody, J. M. (2016). A review of low-density lipoprotein cholesterol, treatment strategies, and its impact on cardiovascular disease morbidity and mortality. *Journal of Clinical Lipidology*, 10(3), 472-489. <https://doi.org/10.1016/j.jacl.2015.11.010>
- Ye, X., Li, P., Lo, Y. M., Fu, H. & Cao, Y. (2019). Development of novel shortenings structured by ethylcellulose oleogels. *Journal of Food Science*, 84(6), 1456-1464. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14615>

Identificación e interacción molecular de péptidos de camarones peneidos con potencial para el tratamiento de la obesidad: un análisis *in silico*

Raúl Balam MARTÍNEZ PÉREZ..
Adriana Karely NAVARRO SAIJAS..
Gislane BRICEÑO ISLAS...
Lourdes Mariana DÍAZ TENORIO....

Resumen

Alrededor del mundo los crustáceos peneidos destacan por su abundancia y relevancia en la pesca comercial, lo que ha llevado a estudiar algunas de sus proteínas para la producción de péptidos y su posible bioactividad contra padecimientos como la hipertensión o diabetes. Sin embargo, estudios de péptidos de origen marino para el tratamiento de la obesidad son escasos. El objetivo del presente trabajo fue identificar péptidos de crustáceos con potencial inhibitorio de la lipoproteína lipasa y lipasas gástricas humanas y caninas. Para esto se utilizaron bases de datos en línea y se cribaron 95 secuencias peptídicas de *Litopenaeus vannamei*. Mediante PASS online se identificó un péptido con actividad inhibitoria de enzimas lipolíticas con $Pa=0.882$ y $Pi=0.003$, lo que indicaba potencial de poseer dicha actividad, mientras que con BIOPEP-UWM se identificó un péptido con un fragmento bioactivo (AGDDAPR) para la inhibición de lipasas. Mediante acoplamiento molecular se describieron las afinidades del complejo inhibidor lipasa que van desde -5.6 kcal/mol a -14.5 kcal/mol,

• Doctor en Ciencias con Especialidad en Biotecnología, Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON).
<https://ocid.org/0000-0001-5152-7695> | raul.martinez@itson.edu.mx.

.. Ingeniero Biotecnólogo, ITSON. <https://ocid.org/0009-0004-1932-0597> | adriana.navarro@potros.itson.edu.mx
... Maestra en Ciencias en Innovación Biotecnológica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. <https://ocid.org/0000-0002-5018-8465> | gibriceno_al@ciatej.edu.mx.

... Doctor en Ciencias en el uso, manejo y preservación de los recursos naturales, ITSON.
<https://ocid.org/0000-0002-8941-3965> | lourdes.diaz@itson.edu.mx

utilizando dos herramientas computacionales distintas: Autodock vina y Autodock Crankpep. Estos resultados muestran que los dos péptidos analizados presentan un alto potencial para inhibir lipoproteína lipasa y lipasas gástricas. Por tal motivo, son moléculas que presentan potencial para tratamiento de la obesidad a partir de organismos marinos.

Palabras clave: enzimas lipolíticas, inhibición, *in silico*, obesidad, péptidos.

Introducción

La obesidad se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud, con consecuencias metabólicas, biomecánicas y psicosociales adversas (Fitch & Bays, 2022; Organización Mundial de la Salud [OMS], 2020). Ha sido asociada con múltiples afecciones. De acuerdo a diversos estudios van desde una relación con enfermedades cardiovasculares, cardiopatía coronaria, determinados tipos de cánceres, dislipemia, diabetes de tipo 2 hasta problemas obstétricos durante el embarazo (Moosaie et al., 2022; Sirtori, 2018; Than et al., 2020; Zhao et al., 2022). Como resultado, las personas que sufren obesidad tienen aproximadamente 50 % más riesgo de morir en comparación con sujetos con un peso normal (Formica et al., 2020). Durante los últimos 30 años, la tasa de obesidad a nivel global ha aumentado 13 % para adultos y 18 % para niños y adolescentes. En la actualidad se estima que las personas obesas superan los 650 millones y están distribuidas en todo el mundo (OMS, 2021). En México, en 2021 se estimó que 36.7 % de los adultos mayores de 20 años sufre de obesidad, mientras que en adolescentes de 12 a 19 años esta se estima en 18.2 % (Shamah-Levy, 2021).

Actualmente, el tratamiento de la obesidad se basa en llevar una buena alimentación y ejercicio, que puede estar acompañada o no con cirugía bariátrica o farmacoterapia, con el objetivo de disminuir el peso (Lucchetta et al., 2017). Dentro de los enfoques farmacológicos para el control del peso se encuentran los supresores del apetito, o bien, fármacos para disminuir la absorción de grasa, como los inhibidores de lipasas (Cignarella et al., 2021; Kumar & Chauhan, 2021). El fármaco Orlistat es utilizado para el control de pérdida de peso; es un inhibidor de lipasas que reduce la absorción de ácidos grasos libres producidos por su actividad; es

comercializado ampliamente, sin embargo, se asocia con problemas gastrointestinales, como diarrea, flatulencia, hinchazón y dolor abdominal (Annamalai et al., 2017; Liu et al., 2020).

La búsqueda de inhibidores de enzimas lipolíticas digestivas que tengan menos efectos secundarios que los que actualmente se comercializan continúa, y principalmente se buscan aquellos obtenidos de fuentes naturales (Kumar & Chauhan, 2021), como los reportados por Ma et al. (2022) a partir de la raíz de radiola (*Rhodiola crenulata*), para inhibir la lipasa pancreática humana. Así mismo, González-Noriega et al. (2022) identificaron péptidos obtenidos de colágeno de la piel de cerdo y pollo con actividad inhibitoria de lipasa pancreática.

Los péptidos de origen marino también han mostrado ser atractivos para diversas industrias, incluida la farmacéutica, los cuales son estudiados con el objetivo de tratar o prevenir enfermedades y reducir los posibles efectos secundarios en comparación con drogas sintéticas. Los componentes de desechos marinos —por ejemplo, vísceras, cabezas, pieles, aletas, mariscos y desechos de exoesqueletos de crustáceos— contienen niveles significativos de proteína de alta calidad, por lo que representan una rica fuente de péptidos (Cunha & Pintado, 2022; Harnedy & FitzGerald, 2012). A partir de proteínas de crustáceos se han podido producir y caracterizar péptidos con actividad antimicrobiana (Matos & Rosa, 2022) o antioxidante (Olatunde & Benjakul, 2022), entre otras. Sin embargo, existe un gran interés por elucidar el potencial biológico enfocado al síndrome metabólico. Por esto, los métodos bioinformáticos son de gran apoyo para explicar el potencial biológico de diversas biomoléculas. Estas herramientas resultan ser de bajo costo, tiempos cortos de respuesta y además ayudan a minimizar el número de pruebas que deben realizarse para la obtención, caracterización y desarrollo de péptidos (Roy et al., 2017).

Una de las plataformas utilizadas en la predicción de bioactividad de moléculas es PASS Online, en la que mediante dos valores ($Pa > Pi$) esta indica el potencial que presenta dicha molécula. El Pa es la probabilidad de estar activo, la cual está definida por la estimación de que el compuesto estudiado se asemeje a las estructuras de las moléculas que son las más típicas de tener tal actividad. En cambio, el Pi es la probabilidad de estar inactivo. Se busca que el valor de Pa sea lo más cercano a 1, lo que indica que la molécula supera a todos los compuestos activos utilizados durante su entrenamiento (Filimonov et al., 2014). En el desarrollo de fármacos,

principalmente en etapas iniciales del proyecto, se utilizan métodos de acoplamiento molecular para obtener información sobre la conformación de unión y la afinidad en un complejo ligando-enzima. La energía libre de unión (ΔG), también conocida como *afinidad*, se representa en kcal/mol (Nguyen et al., 2020; Trott & Olson, 2010).

Debido a lo anterior, el objetivo del presente trabajo está enfocado a identificar péptidos con potencial para inhibir lipasas gástricas obtenidas a partir de proteínas de camarones peneidos, mediante análisis computacionales.

Metodología

Búsqueda de péptidos

La búsqueda de péptidos extraídos de diversas especies de camarones peneidos se realizó considerando publicaciones de 2006 a 2021 y tomando en consideración el tamaño de 0.400 a 2.435 kda, de la base de datos en línea NCBI (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Predicción de bioactividad mediante herramientas *in silico*

La creación de las estructuras en 2D de los péptidos seleccionados se realizó en chemdraw professional 15.0. Posteriormente, la predicción de actividad inhibidora de lipasas se llevó a cabo con dos herramientas en línea: PASS online (<http://www.way2drug.com/passonline/predict.php>), el cual indica la probabilidad de alguna molécula a ser farmacológicamente activa (pa) (Filimonov et al., 2014), y BIOPEP-UWM (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>), en la que se identifican fragmentos de la secuencia peptídica con actividad biológica (Minkiewicz et al., 2019).

Acoplamiento molecular de péptidos

A partir del cribado de péptidos con potencial actividad inhibitoria se observó su interacción con la lipasa pancreática humana, lipasa gástrica de perro y la lipoproteína lipasa humana. La lipasa pancreática humana (Uniprot ID: P16233) se modeló utilizando el servidor en línea Iterative Threading Assembly Refinement (I-TASSER) (Zhang, 2008). Para la lipasa

gástrica se utilizó la estructura cristalizada de la lipasa gástrica de perro (*Canis lupus familiaris*) obtenida de Protein Data Bank (PDB ID:1K8Q), y finalmente la estructura de lipoproteína lipasa humana fue modelada por alphaFold (PDB ID: AF-P06858-F1). En la validación de las estructuras se utilizó el diagrama de Ramachandran generado con Molprobity (<http://molprobity.biochem.duke.edu/>) y verify3d de saves v6.0 (<https://saves.mbi.ucla.edu/>).

Los péptidos bioactivos se prepararon en Avogadro 1.2.0 con el campo de fuerza MMFF94. Los hidrógenos se agregaron durante la preparación de los péptidos, y la proteína, mediante chimera 1.16. Los acoplamientos moleculares se generaron utilizando dos programas: Autodock vina 2.1.1 con Pymol como visualizador y autodock crankpep (ADCP) (Trott & Olson, 2010; Zhang & Sanner, 2019), con una exhaustividad de 16 para Autodock Vina, mientras que para ADCP se utilizaron 20 búsquedas independientes, cada una con 1 millón de evaluaciones o réplicas. Para ambas se utilizó la serina catalítica como residuo flexible: para la lipasa pancreática ser169, lipasa gástrica ser153 y lipoproteína lipasa ser159. Las medidas de las cajas utilizadas (tabla 1) se determinaron con la finalidad de restringir la configuración del péptido en el sitio activo de cada enzima.

Tabla 1. Medidas y ubicaciones de las cajas utilizadas

Programas	Enzimas	Tamaño (X, Y, Z)	Ubicación (X, Y, Z)
AutoDock Vina	Lipasa pancreática	18, 27, 23	69.73, 94.76, 73.77
	Lipasa gástrica	20, 19, 30	28.7, 83.4, 31.17
	Lipoproteína lipasa	25, 17, 17	6.15, -3.13, 16.39
AutoDock CrankPep	Lipasa pancreática	19.50, 23.25, 20.25	70.869, 91.730, 73.703
	Lipasa gástrica	21.00, 19.50, 23.25	31.191, 84.285, 28.382
	Lipoproteína lipasa	26.25, 20.25, 17.25	7.850, -4.309, 12.615

Elaboración propia.

Resultados y discusión

Búsqueda de péptidos

A partir de literatura y bases de datos en línea se lograron identificar 95 secuencias peptídicas provenientes de diversas especies de crustáceos, en su mayoría obtenidas a partir de hidrólisis enzimática ácida o alcalina. Las secuencias obtenidas mostraron tamaños variables (3-10 aminoácidos).

Predicción de bioactividad

Dos secuencias con potencial para inhibir lipasas fueron identificadas (tabla 2): los péptidos Thr-cys-His (359 kDa) y Ala-Gly-Phe-Ala-Gly-Asp-Asp-Ala-Pro-Arg (0.976 kDa), ambos obtenidos mediante hidrólisis alcalina con tripsina, a partir del céfalo-tórax de desecho de la industria camarónica. Es de importancia recalcar que la mayoría de los estudios para la generación de péptidos bioactivos se centran en la preparación de hidrolizado de proteínas utilizando enzimas individuales, con lo que se obtienen péptidos de bajo peso molecular y con una cadena de 2 a 20 residuos de aminoácidos (Du & Li, 2022).

Tabla 2. Fuente de obtención de los péptidos utilizados de crustáceos

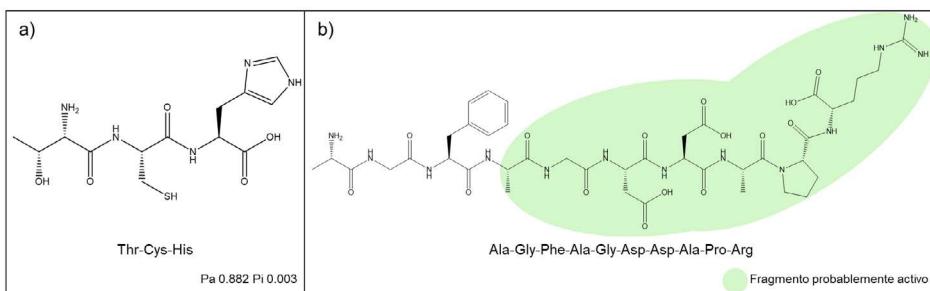
Tejido	Tipo de hidrólisis	Enzima	Secuencia del péptido	Referencia
Subproductos de procesamiento	Alcalina	Tripsina	TCH	Huang et al., 2011
Exo-esqueleto	Alcalina	Tripsina	AGFAGDDAPR	Ambigaipalan & Shahidi, 2017

Elaboración propia.

Con PASS online se identificó que el péptido Thr-cys-His mostró un Pa 0.882 y pi 0.003, lo que indica potencial de poseer dicha actividad. Así mismo, el fragmento Ala-Gly-Asp-Asp-Ala-Pro-Arg de la secuencia Ala-Gly-Phe-Ala-Gly-Asp-Asp-Ala-Pro-Arg presentó bioactividad según la base de datos de BIOPEP-UWM, que contiene actualmente 4,503 péptidos dis-

tribuidos en 61 actividades (consultado el 28 de septiembre de 2022). En la figura 1 se aprecian los dos péptidos identificados como prometedores. Se señala el fragmento activo del péptido identificado en la plataforma de BIOPEP-UWM en color verde.

Figura 1. Péptidos identificados con alto potencial para inhibir lipasas, el péptido “a” mediante PASS Online y “b” con BIOPEP-UWM

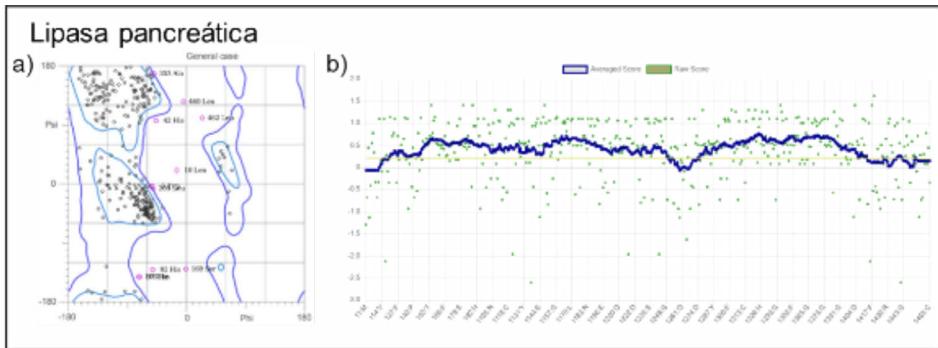


Elaboración propia.

Estructura de enzimas

La validación de las estructuras enzimáticas se analizó mediante los diagramas de Ramachandran generados por MolProbity (figuras 2.1 y 2.2). De acuerdo con Ravikumar et al. (2019) los diagramas de Ramachandran se basan en la aparición de choque estérico entre átomos no enlazados en un sistema de unidades peptídicas de dos enlaces (dipéptido); es decir, una combinación (ϕ, ψ) se considera “no permitida” o “permitida” dependiendo de si se produce o no un choque estérico entre dos átomos.

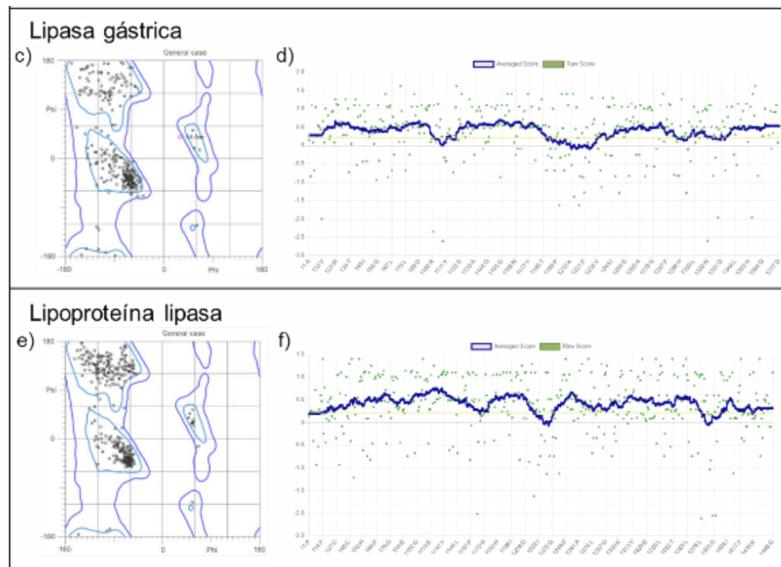
Figura 2.1. Diagramas de calidad de las estructuras enzimáticas, a, c y e corresponden a diagramas de Ramachandran generados por MolProbity, b, d y f generados con Verify3D de SAVES v6.0



Elaboración propia.

A, c y e corresponden a diagramas de Ramachandran generados por MolProbity. B, d y f fueron generados con Verify3D de SAVES v6.0.

Figura 2.2. Diagramas de calidad de las estructuras enzimáticas



Elaboración propia.

a, c y e corresponden a diagramas de Ramachandran generados por MolProbity, b, d y f fueron generados con Verify3D de SAVES v6.0.

En la estructura de la lipasa pancreática, 85.5 % de todos los residuos se encontró en regiones favorecidas, y 95.7 %, en regiones permitidas con 20 residuos de valor atípico; en la lipasa gástrica, un 92.5 % en regiones favorecidas, y un 99.5 %, en regiones permitidas con 2 residuos de valor atípico, y finalmente la lipoproteína lipasa se encontró en 97.5 % en regiones favorecidas, y 100 %, en regiones permitidas. De manera general valores mayores a 90 % de residuos en regiones favorecidas es un indicativo de la estabilidad de la estructura y, por lo tanto, de la calidad del modelo proteico (tabla 3) (Laskowski et al., 2012; Wlodawer, 2017).

Tabla 3. Residuos en regiones favorecidas y permitidas de las estructuras enzimáticas

Enzimas	Residuos en regiones		Interpretación del modelaje*
	favorecidas (%)	permitidas (%)	
Lipasa pancreática	85.5	95.7	<90%: Problemas locales
Lipasa gástrica	92.5	99.5	>90%: Modelo estable
Lipoproteína lipasa	97.5	100	>90%: Modelo estable

Elaboración propia.

*>90 % de residuos en regiones favorecidas se considera indicativo de la calidad del modelo proteico

Acoplamiento molecular de péptidos

Se realizó acoplamiento molecular de los péptidos identificados como bioactivos y las tres estructuras de lipasas. En la tabla 4 se presentan las afinidades obtenidas, donde el péptido A es Thr-Cys-His y el péptido B corresponde a Ala-Gly-Phe-Ala-Gly-Asp-Asp-Ala-Pro-Arg. Las mejores afinidades se obtuvieron utilizando Autodock crankPep (ADCP) para el péptido B, las cuales se encuentran en el rango de -11.8 a -14.5 kcal/mol. ADCP es un programa especializado en el acoplamiento de péptidos, y logra acoplar con éxito péptidos de hasta 20 aminoácidos (Zhang & Sanner, 2019).

En cambio, el acoplamiento molecular del péptido A presentó una afinidad menor, pues se encontró entre -5.6 a -6.4 Kcal/mol. Fue realizado con AutoDock vina, que es un programa para el acoplamiento de moléculas de bajo peso, pero no es específica para péptidos con muchos ángulos de rotación (Trott & Olson, 2010). Para ambos péptidos, la afinidad más alta se encontró con la lipasa gástrica, y la más baja, con la lipoproteína lipasa,

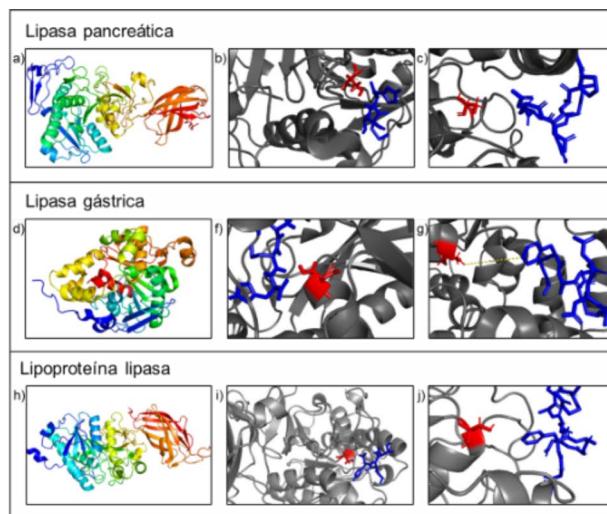
lo cual indica que ambos péptidos presentan mejor estabilidad al unirse con la lipasa gástrica. La afinidad de unión en el acoplamiento representa su estabilidad en el bolsillo de una enzima, característica importante en compuestos de interés (Adelusi et al., 2022). La visualización de los acoplamientos con Autodock vina y Autodock crankpep fueron realizadas con pymol (figura 3). En ambos el péptido se encuentra de color azul, y de color rojo se muestra la serina catalítica.

Tabla 4. Afinidades entre distintas lipasas y los péptidos identificados como prometedores

Enzimas	Afinidad (kcal/mol)	
	péptido a	péptido b
Lipasa pancreática	-6.4	-12.9
Lipasa gástrica	-6.5	-14.5
Lipoproteína lipasa	-5.6	-11.8

Elaboración propia.

Figura 3. Acoplamientos moleculares proteína-péptido visualizados en Pymol



Elaboración propia

"a", "d" y "h" corresponden a las enzimas solas, "b", "e" e "i" se muestran los acoplamientos con el péptido A, y finalmente en "c", "f" y "j" son los acoplamientos con el péptido B.

Conclusiones

Los péptidos obtenidos a partir de literatura fueron sometidos a diversos ensayos *in silico*, con lo que se logró identificar dos péptidos prometedores para la inhibición de lipasas (péptido A: Thr-Cys-His y el péptido B: Ala-Gly-Phe-Ala-Gly-Asp-Asp-Ala-Pro-Arg). Si bien los péptidos son prometedores, se requieren más ensayos *in vitro* e *in vivo* para comprobar su seguridad y eficiencia para la inhibición de la lipasa pancreática, gástrica y lipoproteína lipasa y, así, ser consideradas en un futuro como un posible tratamiento para la obesidad, con la finalidad de poder mejorar la calidad de vida de las personas.

Referencias

- Adelusi, T. I., Oyedele, A.-Q. K., Boyenle, I. D., Ogunlana, A. T., Adeyemi, R. O., Ukachi, C. D., Oluwaseun, Idris, M. O., Olaoba, O.T., Adedotun, I. O., kalawole, O. E., Xiaoxing, T. & Abdul-Hammed, M. (2022). Molecular modeling in drug discovery. *Informatics in Medicine Unlocked*, 29. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j imu.2022.100880>
- Ambigaipalan, P. & Shahidi, F. (2017). Bioactive peptides from shrimp shell processing discards: antioxidant and biological activities. *Journal of Functional Foods*, 34, 7-17. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.04.013>
- Annamalai, S., Mohanam, L., Raja, V., Dev, A. & Prabhu, V. (2017). Antiobesity, antioxidant and hepatoprotective effects of Diallyl trisulphide (DATS) alone or in combination with Orlistat on HFD induced obese rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 93, 81-87. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bioph.2017.06.035>
- Cignarella, A., Busetto, L. & Vettor, R. (2021). Pharmacotherapy of obesity: an update. *Pharmacological Research*, 169. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105649>
- Cunha, S. A., & Pintado, M. E. (2022). Bioactive peptides derived from marine sources: Biological and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 119, 348-370. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.017>
- Du, Z. & Li, Y. (2022). Review and perspective on bioactive peptides: a roadmap for research, development, and future opportunities. *Journal of Agricul-*

- ture and Food Research*, 9. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100353>
- Filimonov, D. A., Lagunin, A. A., Gloriozova, T. A., Rudik, A. V., Druzhilovskii, D. S., Pogodin, P. V. & Poroikov, V. V. (2014). Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the pass online web resource. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*, 50(3), 444-457. <https://doi.org/10.1007/s10593-014-1496-1>
- Fitch, A. K. & Bays, H. E. (2022). Obesity definition, diagnosis, bias, standard operating procedures (SOPs), and telehealth: an Obesity Medicine Association (OMA) Clinical Practice Statement (CPS) 2022. *Obesity Pillars*, 1. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.obpill.2021.100004>
- Formica, V., Morelli, C., Riondino, S., Renzi, N., Nitti, D., Di Daniele, N., Roselli, M. & Tesauro, M. (2020). Obesity and common pathways of cancer and cardiovascular disease. *Endocrine and Metabolic Science*, 1(3-4). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.endmts.2020.100065>
- González-Noriega, J. A., Valenzuela-Melendres, M., Hernández-Mendoza, A., Astiazarán-García, H., Mazorra-Manzano, M. Á. & Peña-Ramos, E. A. (2022). Hydrolysates and peptide fractions from pork and chicken skin collagen as pancreatic lipase inhibitors. *Food Chemistry: X*, 13. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100247>
- Harnedy, P. A. & FitzGerald, R. J. (2012). Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: a review. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 6-24. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.09.001>
- Huang, G., Ren, L. & Jiang, J. (2011). Purification of a histidine-containing peptide with calcium binding activity from shrimp processing byproducts hydrolysate. *European Food Research and Technology*, 232(2), 281-287. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1388-2>
- Kumar, A. & Chauhan, S. (2021). Pancreatic lipase inhibitors: the road voyaged and successes. *Life Sciences*, 271. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119115>
- Laskowski, R. A., MacArthur, M. W. & Thornton, J. M. (2012). procheck: validation of protein-structure coordinates. *International tables for crystallography* (pp. 684-687). <https://doi.org/https://doi.org/10.1107/97809553602060000882>
- Liu, T.-T., Liu, X.-T., Chen, Q.-X. & Shi, Y. (2020). Lipase Inhibitors for obesity: a review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 128. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110314>

- Lucchetta, R. C., Riveros, B. S., Pontarolo, R., Radominski, R. B., Otuki, M. F., Fernandez-Llimos, F. & Correr, C. J. (2017). Systematic review and meta-analysis of the efficacy and safety of amfepramone and mazindol as a monotherapy for the treatment of obese or overweight patients. *Clinics*, 72(5), 317-324. [https://doi.org/https://doi.org/10.6061/clinics/2017\(05\)10](https://doi.org/https://doi.org/10.6061/clinics/2017(05)10)
- Ma, L.-J., Hou, X.-D., Qin, X.-Y., He, R.-J., Yu, H.-N., Hu, Q., Guan, X.-Q., Jia, S.-N., Hou, J., Lei, T. & Ge, G.-B. (2022). Discovery of human pancreatic lipase inhibitors from root of *Rhodiola crenulata* via integrating bioactivity-guided fractionation, chemical profiling and biochemical assay. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 12(4), 683-691. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpha.2022.04.002>
- Matos, G. M. & Rosa, R. D. (2022). On the silver jubilee of crustacean antimicrobial peptides. *Reviews on Acqualture*, 14(2), 594-612. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/raq.12614>
- Minkiewicz, P., Iwaniak, A. & Darewicz, M. (2019). BIOPEP-UWM database of bioactive peptides: current opportunities. *Journal of Molecular Sciences*, 20(23). <https://doi.org/10.3390/ijms20235978>.
- Moosaie, F., Ghaemi, F., Mechanick, J. I., Shadnoush, M., Firouzabadi, F. D., Kermanchi, J., Poopak, A., Esteghamati, S., Forouzanfar, R., Abhari, S. M. F., Mansourinia, M. A., Khosravi, A., Gholami, E., Nakhjavani, M. & Esteghamati, A. (2022). Obesity and diabetic complications: a study from the nationwide diabetes report of the National Program for Prevention and Control of Diabetes (NPPCD-2021). *Implications for Action on Multiple Scales. Primary Care Diabetes*, 16(3), 422-429. <https://doi.org/10.1016/j.pcd.2022.03.009>
- Nguyen, N. T., Nguyen, T. H., Pham, T. N. H., Huy, N. T., Bay, M. V., Pham, M. Q., Nam, P. C., Vu, V. V. & Ngo, S. T. (2020). Autodock vina adopts more accurate binding poses but Autodock4 forms better binding affinity. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 60(1), 204-211. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00778>
- Olatunde, O. O. & Benjakul, S. (2022). Antioxidants from crustaceans: a panacea for lipid oxidation in marine-based foods. *Food Reviews International*, 38(1), 1-31. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1717522>
- Organización Mundial de la Salud (s.f.). Obesidad. https://www.who.int/es/health-topics/obesity#tab=tab_1
- (2021, 9 de junio). *Obesity and overweight*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

- Ravikumar, A., Ramakrishnan, C. & Srinivasan, N. (2019). Stereochemical assessment of (ϕ, ψ) outliers in protein structures using bond geometry-specific ramachandran steric-maps. *Structure*, 27(12), 1875-1884. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.str.2019.09.009>
- Roy, A., Nair, S., Sen, N., Soni, N. & Madhusudhan, M. S. (2017). *In silico* methods for design of biological therapeutics. *Methods*, 131, 33-65. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2017.09.008>
- Shamah-Levy, T., R.-M. M., Barrientos-Gutiérrez, T., Cuevas-Nasu, L., Bautista-Arredondo, S., Colchero, M. A., Gaona-Pineda, E. B., Lazcano-Ponce, E., Martínez-Barnetche, J., Alpuche-Arana, C. & Rivera-Dommarco, J. (2021). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2021 sobre Covid-19. Resultados nacionales*. Secretaría de Salud.
- Sirtori, A., Brunani, A., Capodaglio, P., Berselli, M. E., Villa, V., Corti, S., Leonardi, M., Raggi, A. & ICF-OBESITY Group (2018). ICF-OB: a multidisciplinary questionnaire based on the International Classification of Functioning, Disability and Health to address disability in obesity. *European Journal of Physical and Rehabilitation Medicine*, 54(1), 119-121. <https://doi.org/https://doi.org/10.23736/S1973-9087.17.04836-5>
- Than, W. H., Chan, G. Ch.-K., Ng, J. K.-C. & Szeto, C.-C. (2020). The role of obesity on chronic kidney disease development, progression, and cardiovascular complications. *Advances in Biomarker Sciences and Technology*, 2, 24-34. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.abst.2020.09.001>
- Trott, O. & Olson, A. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multi-threading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- Wlodawer, A. (2017). Stereochemistry and validation of macromolecular structures. En A. Wlodawer, Z. Dauter, M. Jaskolski (Eds), *Protein crystallography. methods in molecular biology* (Vol. 1607). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7000-1_24
- Zhang, Y. & Sanner, M. F. (2019). AutoDock CrankPep: combining folding and docking to predict protein-peptide complexes. *Bioinformatics*, 35(24), 5121-5127. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz459>
- Zhang, Y. J. (2008). I-tasser server for protein 3d structure prediction. *BMC Bioinformatics*, 9(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-9-40>
- Zhao, D., Liu, Y., Jia, S., He, Y., Wei, X., Liu, D., Ma, W., Luo, W., Gu, H & Yuan, Z. (2022). Influence of maternal obesity on the multi-omics pro-

files of the maternal body, gestational tissue, and offspring. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 151. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113103>

**Avances de la Ciencia y la Tecnología para
el Desarrollo Sostenible. Tomo I**

Se terminó de editar noviembre de 2023 en
los talleres gráficos de Prometeo Editores, S. A. de C. V.
Libertad 1457, colonia Americana, C. P. 44160,
Guadalajara, Jalisco, México.

Hecho en México / *Made in Mexico*

Fuentes tipográficas utilizadas:

Gelasio y Open Sans

La sostenibilidad es un tema crucial en la actualidad: busca equilibrar el desarrollo económico y social con la protección del medio ambiente y la preservación de los recursos naturales para las generaciones futuras. La ciencia y la tecnología tienen un papel fundamental en la búsqueda de soluciones innovadoras para avanzar hacia un modelo más sostenible. Este libro presenta una recopilación de doce capítulos de investigación que abordan diferentes problemáticas ambientales, de producción y consumo responsables y de salud y bienestar, en los que se proponen soluciones innovadoras que puedan contribuir al cumplimiento de los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la Agenda 2030 de las Naciones Unidas.

El agua es un recurso fundamental para la vida, y su disponibilidad y calidad son esenciales para el bienestar humano y la conservación de los ecosistemas. Los capítulos de este libro presentan soluciones innovadoras para la gestión del agua, incluyendo la identificación de microorganismos que degradan plásticos, la utilización de enzimas para la degradación de antibióticos en aguas residuales, la generación de nanopartículas metálicas a partir de residuos agroindustriales para la eliminación de contaminantes orgánicos en agua y el uso de biocarbón generado a partir de residuos orgánicos para la eliminación de metales pesados en el agua, entre otros temas. Además, se destaca la importancia de la aplicación de la ingeniería de calidad para garantizar la inocuidad del agua destinada al consumo humano.



UNIVERSIDAD DE
GUADALAJARA
Red Universitaria de Jalisco

9 786075 719726



C E N T R O
UNIVERSITARIO
D E L N O R T E

9 786075 719733