

MUJERES EN LA CIENCIA PARA EL FORTALECIMIENTO DEL DESARROLLO SUSTENTABLE



Coordinadores(as):

Georgina Coral Sandoval Fabián, Rocío Calderón García
Jesús Fuentes González

**MUJERES EN LA CIENCIA
PARA EL FORTALECIMIENTO
DEL DESARROLLO SUSTENTABLE**



El presente documento fue elaborado gracias al apoyo del proyecto 9193-2020 denominado “Memorias del II Congreso de Investigadoras del SNI: Ingeniería para un futuro sustentable”, el cual fue apoyado a través del Programa de Difusión y Divulgación de la Ciencia, Tecnología e Innovación (DyD) 2020 del Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología del Estado de Jalisco.

© D.R. Centro Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A. C.

Av. Normalistas 800, Col. Colinas de la Normal, Guadalajara Jalisco C.P. 44270

Los capítulos de este libro fueron sometidos a un proceso de selección por el Comité Científico del Congreso de Investigadoras del Sistema Nacional de Investigadoras y posteriormente fueron dictaminados a doble ciego por expertos en sus respectivas áreas de estudio

Coordinadores(as): Georgina Coral Sandoval Fabián, Rocío Calderón García y Jesús Fuentes González

Editoras: Georgina Coral Sandoval Fabián y Rocío Calderón García

Editora literaria: María Dolores Reyes Duarte

Diseño: Karen Elizabeth Pérez Beltrán

ISBN: 978-607-8734-30-6

Impreso en México (85 ejemplares)



Comité científico de evaluadoras y evaluadores.

Dra. Cristina Aparicio Ávila

Profesora e investigadora, CUCSH, Universidad de Guadalajara

Dra. Rocío Calderón García

Profesora e investigadora del Departamento de Estudios Internacionales del CUCSH de la Universidad de Guadalajara

Dra. Yanet Chávez Reyes

Investigadora del Instituto Tecnológico Superior de Choapas

Dr. Luis Joel Figueroa Yáñez

Investigador de la Unidad de Biotecnología Industrial del CIATEJ, A. C.

Dra. Mónica Flores Muñoz

Profesora e investigadora del Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Veracruzana

Dr. Mario Alberto Flores Valdez

Investigador de la Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica del CIATEJ, A. C.

Dr. Evelio Gerónimo Bautista

Coordinación de Procesos Académicos de LAE, LGT, LFIN y LCP de la UNIVA

Dra. Clara Coleta Oropeza Martínez

Dirección de Investigación de la Universidad Enrique Díaz de León

Dr. Artides Pelegrí Mesa

Profesor e investigador de la Universidad Camaguey Cuba

Dra. Claudia Robles Morales

Rectora de Investigación de la Universidad Enrique Díaz de León

Dra. Georgina Coral Sandoval Fabián

Investigadora de la Unidad de Biotecnología Industrial del CIATEJ, A. C.



Índice

Prólogo _____	6
Introducción _____	9
Semblanzas de autores(as) _____	15
Trabajos	
1. Propiedades fisicoquímicas de las hormigas crudas y asadas (<i>Atta mexicana</i>) y su aceptación en comunidades rurales. _____	29
2. Identificación de estructuras arqueológicas usando métodos geofísicos en la región de Oconahua, Jalisco. _____	41
3. La lipasa de papaya y su eficacia como catalizador en diversas reacciones de síntesis de interés industrial. _____	63
4. Herramientas Bioinformáticas para el Análisis de Mutaciones en Secuencias de ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> . _____	77
5. Desarrollo y aplicación de un sistema en continuo para la inactivación de microorganismos mediante fluidos supercríticos asistidos por ultrasonidos de potencia. _____	93
6. Empleo de enzimas lignocelulósicas para la revalorización de residuos agroindustriales. _____	101
7. La salud como un derecho fundamental ante el COVID 2019 y futuras pandemias. _____	134
8. Efecto de la administración de lípidos dietarios sobre el síndrome metabólico en modelos murinos. _____	152
9. Producción y caracterización de una proteína recombinante compuesta por un dominio VNAR anti TGF- β y la chaperona tiorredoxina. _____	167
10. Factibilidad y diseño de un proceso biocatalítico para la producción de un biopolímero a base de residuos de cutícula de jitomate. _____	185

Prólogo

El Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), es un Centro Público de Investigación del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) que impulsa la generación de conocimiento y la aplicación de ciencia y tecnología, comprometido a apoyar los sectores sociales y económicos de los sistemas productivos del país. En el marco del II Congreso de Investigadoras del SNI: Ingeniería para un futuro sustentable, se publican Mujeres en la ciencia para el fortalecimiento del desarrollo sustentable, cuyo objetivo es contribuir a difundir y divulgar la ciencia y el desarrollo tecnológico en el área de las ingenierías.

Este libro abre una perspectiva de comunicación de la ciencia en temas como: procesos enzimáticos para aprovechamiento de residuos lignocelulósicos, producción de biopolímeros, además de temas como bioinformática en salud, como lípidos y su efecto sobre el síndrome metabólico.

La compilación de estos trabajos permite que investigadoras pertenecientes al Sistema Nacional de Investigadores(as) (SNI), difundan sus investigaciones y trabajos dirigidos a personal científico, tecnológico y académico de IES y CPIs del país.

Dra. Eugenia del Carmen Lugo Cervantes
Directora General del CIATEJ

INTRODUCCIÓN

Jalisco es la cuarta economía nacional en cuanto a su aportación al PIB mexicano, un importante sistema estatal de Educación Superior Tecnológica y un Sistema de Universidades Privadas líderes en el México, y a pesar de ello la concentración de su oferta educativa se enfoca en las carreras de derecho, administración, contaduría y medicina, siendo importante para la detonación de la innovación tecnológica orientar la oferta hacia las ingenierías al mismo tiempo promover la cultura científica y la divulgación de la ciencia a través de publicaciones arbitradas en esta área que permita a la sociedad y a los jóvenes jaliscienses tener una nueva mirada hacia las ingenierías como profesión para mejorar la calidad de vida y solucionar problemas actuales, y sobre todo como una actividad que promueve e impulsa el desarrollo sustentable.

La propuesta de la presente publicación nace con el propósito de dar continuidad a los trabajos presentados en el II Congreso de Mujeres en la Ciencia de los cuales han sido editados tres publicaciones: Investigadoras en las Ciencias (Arias Merino y Vega López 2017), Hablando de Ciencia entre Mujeres (Cerros Rodríguez y Macías González Gizelle Guadalupe 2017) y Aportaciones de mujeres a la ciencia. Perspectivas multidisciplinares (García Bátiz e Islas Torres 2017) los cuales fueron publicados por la Universidad de Guadalajara y la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Dando continuidad a la visualización de los trabajos académicos científicos de las mujeres en la ciencia se presenta esta publicación con el objetivo de generar a través de una publicación científica un espacio incluyente para la reflexión sobre las aportaciones de las investigadoras pertenecientes al Sistema Nacional de Investigadores al conocimiento de las ingenierías y la sustentabilidad, así como sobre la situación de las mujeres en la ciencia en Jalisco, buscando generar un espacio de reflexión y diseño de propuestas de acción para fortalecer la transversalidad de la perspectiva de género y la equidad en el sistema de investigación científica e innovación tecnológica.

Dando a conocer materiales inéditos de artículos que fueron arbitrados por un comité científico en el Congreso de Mujeres en la Ciencia integrando temas de ingeniería, biotecnología y sustentabilidad. Así mismo fueron sometidos nuevamente a un comité científico doble ciego a nivel nacional e internacional

para cuidar la calidad de cada uno de los capítulos propuestos.

En estas páginas la audiencia encontrará temas de gran interés y actualidad en el campo científico, así como de divulgación en temas como las **“Propiedades fisicoquímicas de las hormigas crudas y asadas (*Atta Mexicana*) y su aceptación en comunidades rurales”** de Alejandra Ramírez Martínez e Ingrid Paniagua Martínez donde esbozan un tema de mucha actualidad debido a que fortalece los procesos de nutrición y mejora la salud. Teniendo como propósito central el analizar algunas de las principales propiedades fisicoquímicas de las hormigas chicatanas crudas y asadas de un sitio ubicado en las altas montañas del estado de Veracruz. La metodología que abordaron fue cuantitativa y de tipo experimental, su tratamiento estadístico que abordaron es acuerdo con la naturaleza del estudio, con una metodología fisicoquímico, cinética de secado-tostado, así como encuestas de consumo y aceptación de *Atta mexicana*. Los investigadores realizaron pruebas de análisis de varianza de una vía (ANOVA) con un nivel de confianza del 95.0% y pruebas de Duncan para analizar las diferencias en los parámetros fisicoquímicos y la aceptación de *Atta mexicana*. Entre los principales resultados destacan el constante giro de las hormigas chicatanas durante el tostado aumentaba el contenido total de grasa. Concluyendo que el nivel de consumo de *Atta mexicana* en la población encuestada se vio afectado en los últimos años por la falta de lluvias. Los académicos destacaron que esta población aprecia mucho la *Atta mexicana* por su sabor y tradición.

En el segundo capítulo **“Identificación de estructuras arqueológicas usando métodos geofísicos en la región de Oconahua, Jalisco”**, desarrollado por un equipo consolidado de investigación conformado por Emilia Fregoso Becerra, Sean M. Smith Márquez, Abel Palafox González, Fernando Becerra López, Miguel Ángel Alatorre Zamora e Israel Alberto Dávila Rodríguez, destacan los procedimientos aplicados a las mediciones magnéticas, así como el modelo de inversión tridimensional proporcionaron información geofísica, con grados de innovación debido a que no existente hasta la fecha este tipo de información asociada a las estructuras de la zona de estudio, así mismo los investigadores destacan que este tipo de Información contribuye con el conocimiento de las características arquitectónicas de la zona y por lo tanto, con el entendimiento de los aspectos culturales y sociales de dicha región.

En el capítulo **“La lipasa de papaya y su eficacia como catalizador en diversas reacciones de síntesis de interés industrial”**, que nos presenta Georgina Coral

Sandoval Fabián e Ivanna Yvonne Rivera Espinosa, se muestran los resultados obtenidos en el proceso de purificación parcial como la evaluación de su capacidad en reacciones de síntesis de polímeros de ϵ -caprolactona, producción de lípidos sucedáneos (análogos) de leche materna, y polímeros de ϵ -caprolactona y resolución de la mezcla racémica del éster octílico del ácido 2- bromofenil acético. Llegando a la conclusión que La obtención de biocatalizadores con actividad lipolítica conseguidos a partir del látex de papaya, con distintas propiedades y características fisicoquímicas ayudó no solo en el estudio de la complejidad de las distintas proteínas con la actividad lipasa presentes en el látex de *Carica papaya*, sino para selección del mejor catalizador de acuerdo con las reacciones de interés. Por su parte en el capítulo **“Herramientas Bioinformáticas para el Análisis de Mutaciones en Secuencias de ADN de *Staphylococcus aureus*”** presentado por Ikuri Álvarez Maya, Juan Fernando Hernández Amador y Gabriel Alonso Moran Marroquín presentan un enfoque muy actual donde destacan que las herramientas bioinformáticas bajo licencia facilitan el análisis y manejo de las secuencias de ADN con las que se trabaja, sin embargo, indican que las herramientas open source para el análisis de mutaciones en secuencias de ADN realizan un trabajo eficaz si se utilizan y analiza el trabajo adecuadamente pues, las mutaciones no siempre se presentan en sitios significativos para resistencia bacteriana o beneficio de la cepa. Destacando dentro de sus resultados el análisis completo de una secuencia genómica utilizando herramientas bioinformáticas open source para la búsqueda de mutaciones en secuencias completas, ya conocidas, de ADN, rescatando mutación significativa para *S. aureus*.

En el capítulo **“Desarrollo y aplicación de un sistema en continuo para la inactivación de microorganismos mediante fluidos supercríticos asistidos por ultrasonidos de potencia”** presentado por Ingrid Paniagua Martínez, Alejandra Ramírez Martínez destacan que los consumidores demandan productos con características similares a los naturales, por lo que existe un creciente interés por las técnicas de conservación no térmicas. Por tanto, su estudio es muy pertinente y actual centrándose en estas nuevas tecnologías es asegurar la conservación de alimentos, manteniendo el valor nutricional y propiedades organolépticas de los productos tratados entre las tecnologías estudiadas destacan: luz pulsada [1], empleo de ozono [2], alta presión hidrostática [3], pulsos eléctricos [4], ultrasonidos de potencia [5], luz ultravioleta [6]. Entre sus hallazgos hacen mención del proceso de inactivación mediante fluidos supercríticos (SC-CO₂) ha sido investigado como una técnica prometedora, ya que promueve un impacto mínimo sobre las propiedades nutricionales de los alimentos.

Así mismo en el capítulo **“Empleo de enzimas lignocelulósicas para la revalorización de residuos agroindustriales”** de Lorena Amaya Delgado, Georgina Coral Sandoval Fabian y José Ángel García Béjar se enfocan principalmente en el aprovechamiento integral de los recursos y desechos generados por las actividades económicas, entre ellas la agroindustria, destacando el interés de este tipo de estudio debido al potencial que poseen los residuos lignocelulósicos para la obtención de diversos metabolitos a través de procesos biotecnológicos. Por su parte también enfatizaron que en los residuos lignocelulósicos se conforman principalmente por tres polímeros estructurales; celulosa, hemicelulosa y lignina, así mismo señalaron que para poder ser utilizados es necesario aplicar una serie de operaciones como el pretratamiento y la hidrólisis enzimática.

Dentro del capítulo **“La salud como un derecho fundamental ante el COVID 2019 y futuras pandemias”** abordado por Rocío Calderón García y Jorge Alfredo Jiménez Torres es de gran valor debido a los acontecimientos que nos enfrentamos por la actual emergencia sanitaria. Tomando en cuenta los cambios realizados al artículo 4º. Constitucional donde la salud es un derecho Universal. Se rescatan documentos de carácter internacional como lo es la Corte Interamericana de los Derechos Humanos, tomando en cuenta que la salud debe garantizarse respetando la dignidad humana y observando los principios fundamentales de la bioética, de conformidad con los estándares interamericanos en cuanto a su disponibilidad, accesibilidad, aceptabilidad y calidad. Así mismo se presenta un análisis de las repercusiones tanto en el quehacer de las instituciones, como en el ejercicio de algunos de sus derechos humanos por las personas, se enfatiza en el reto de modificar los modos de realizar las actividades productivas, profesionales y personales, ante el riesgo de una afectación generalizada a la salud y al medio ambiente, que no afecten derechos y libertades de las personas.

En el capítulo **“Efecto de la administración de lípidos dietarios sobre el Síndrome Metabólico en Modelos Murinos”** de Rosa María Oliart, María del Socorro Herrera Meza, María Guadalupe Sánchez Otero, Karla Rosana Reyes Saldaña, Abril Ramírez Higuera presentan un corte científico y actual demostrando que la adición de la proteína chaperona tioredoxina al vNAR-T1 mejoró el rendimiento y producción en un sistema heterólogo de *E. coli* usando el plásmido pET32α+. Así mismo destacaron que se obtuvieron mejor expresión de la proteína vNAR T1-Trx y rendimiento cuando se utilizó el medio 2xYT (5.877 mg/L), que representó un incremento de 6.4 veces respecto a medio LB. En el ensayo de ELISA, se demostró que el vNAR T1 conservó el reconocimiento por la citocina TGF-β1 cuando se encontraba fusionado con Trx.

En el capítulo **“Producción y caracterización de una proteína recombinante compuesta por dominio vNAR anti-TGF- β y la chaperona tiorredoxina”** presentado por Tanya Camacho Villegas, Mirna Burciaga Flores y Elisa Fuentes Medina señalan que para mejorar el rendimiento de expresión de proteína de un dominio vNAR que puede aplicarse como alternativa de reconocimiento y neutralización de TGF- β , se generó un plásmido recombinante que contiene la secuencia codificante de un dominio vNAR anti-TGF- β y la proteína de fusión (tiorredoxina). A lo que denominaron vNAR-T1/Trx. Se realizó la expresión heteróloga en un sistema bacteriano de *E. coli* BL21(DE3), demostrando que la construcción vNAR-T1/Trx en el plásmido pET32 α +, favorece la sobreexpresión de la proteína recombinante (29 kDa).

Por último, el capítulo **“Factibilidad y diseño de un proceso biocatalítico para la producción de un biopolímero a base de residuos de cutícula de jitomate”**, abordado por Bárbara Isabel Mora Cortés, Carolina Peña Montes y Dolores Reyes Duarte destacaron que el capítulo es muy pertinente en el campo de la sostenibilidad y nos presenta una propuesta teórica para la producción de un biopolímero a partir de cutícula de jitomate y ácido láctico, enfocándolo a la producción de bolsas con potencial biodegradable, se destaca que el uso de residuos vegetales para la creación de materiales biodegradables es algo necesario, debido al periodo que tardan los polímeros a base de petróleo en degradarse es de 150 a 2500 años en comparación con los meses que tardan en degradarse los biomateriales. Por tanto, dentro de sus hallazgos se destaca que sería de gran utilidad emplear los residuos de jitomate e incluso los jitomates que se consideran como residuos al sufrir daño, ya sea por factores físicos o biológicos, los cuales se venden al mínimo. Al mismo tiempo se hace la recomendación para este tipo de estudio el asociarse con una empresa productora de este fruto o que utilice el jitomate como materia prima con el fin de emplear sus residuos como la cáscara. Se recomienda hacer la síntesis del biopolímero con la cutina de *T. reesii* experimentalmente para comprobar los datos teóricos obtenidos en el “docking”. Se recomienda evaluar los solventes orgánicos como el iso-octano y el éter dietílico, para determinar el solvente adecuado para la estabilidad de la cutinasa en la reacción de síntesis.

En estos diez capítulos presentados por treinta y tres autoras y autores del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ), Universidad de Guadalajara, Colegio de Postgraduados (Campus Veracruz), Universitat Politècnica de Valencia, Colegio de Michoacán, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Salesas Instituto, Universidad UNE, Tecnológico

Nacional de México/Instituto Tecnológico de Veracruz, Universidad Veracruzana y Universidad Autónoma Metropolitana, dan a conocer los hallazgos obtenidos de las investigaciones que realizan para fortalecer la gestión del conocimiento, la innovación así como el uso y la transferencia del conocimiento para contribuir a la generación de bienestar social en México.

La presente obra fue editada por el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C. gracias al apoyo del proyecto 9193-2020 denominado "Memorias del II Congreso de Investigadoras del SNI: Ingeniería para un futuro sustentable", el cual fue apoyado a través del Programa de Difusión y Divulgación de la Ciencia, Tecnología e Innovación (DyD) 2020 del Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología del Estado de Jalisco.

SEMBLANZAS

1. Propiedades fisicoquímicas de las hormigas crudas y asadas (*Atta mexicana*) y su aceptación en comunidades rurales

• Alejandra Ramírez Martínez

La Dra. Alejandra Ramírez Martínez cursó sus estudios de Ingeniería (Ing. Bioquímica, 2000-2004), y Maestría en Ciencias (en Ingeniería Bioquímica, 2005-2007) en el Instituto Tecnológico de Veracruz. La Dra. Ramírez cursó entre los años 2007-2011 estudios de doctorado en ciencias en la Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos y la Université de Montpellier 2 sobre temas para disminuir el posible rechazo de lotes de café por instancias internacionales. Entre los años 2012-2014 cursó un posdoctorado en la Université de la Bretagne Occidentale en donde trabajó temas relacionados con la exposición y consumo de alimentos en donde adquirió experiencia sobre la cuantificación de los alimentos consumidos y la exposición de diversas poblaciones a componentes de los alimentos. Desde 2018 es profesor investigador del Colegio de Postgraduados campus Veracruz. Actualmente, es miembro del Sistema Nacional de Investigadores (Nivel I), y ha trabajado en proyectos para la cuantificación de pérdidas de alimentos en la cadena agroalimentaria, y riesgo y exposición a productos químicos en el marco de la seguridad alimentaria. A lo largo de su carrera a formado a varios jóvenes de licenciatura, maestría y doctorado de instituciones nacionales y del extranjero.

• Ingrid Paniagua Martínez

La Dra. Ingrid Paniagua Martínez, es Ingeniero Químico por el Instituto Tecnológico de Orizaba (2003-2007), M.C. en Ingeniería Bioquímica (2008-2011) y Dra. en Ciencias en Alimentos (2012-2017) por la Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos (UNIDA) del Instituto Tecnológico de Veracruz, así como Dra. en Ciencia, Tecnología y Gestión Alimentaria (2012-2017) por la Universidad Politécnica de Valencia, España. Su principal línea de investigación ha sido la inactivación de microorganismos, conservación de alimentos y la extracción de compuestos bioactivos empleando tecnologías no térmicas, específicamente: CO₂ como fluido supercrítico, ultrasonidos de potencia y pulsos eléctricos, desarrollando las tecnologías de manera individual y combinada, buscando siempre, la intensificación y mejora de los procesos. Fue catedrático de la Universidad Veracruzana durante los años 2017 a 2019. Desde marzo de 2019 realiza una estancia postdoctoral en la

Universidad Politécnica de Valencia, donde sigue desarrollando estudios basados en su principal línea de investigación. Ha participado en más de 30 congresos nacionales e internacionales. Desde 2019 es miembro del Sistema Nacional de Investigadores (Nivel Candidato). A lo largo de su vida académica, ha formado a varios estudiantes de licenciatura y maestría de instituciones nacionales y del extranjero.

2. Identificación de estructuras arqueológicas usando métodos geofísicos en la región de Oconahua, Jalisco

• Emilia Fregoso Becerra

Doctorado en Ciencias en Ciencias de la Tierra con orientación en Geofísica Aplicada, Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE), Ensenada, B. C.; Maestría en Ciencias en Matemáticas Aplicadas, Centro de Investigación en Matemáticas (CIMAT), Guanajuato, Guanajuato.; Licenciatura en Matemáticas, CUCEI, Universidad de Guadalajara.

Profesora investigadora adscrita al Departamento de Matemáticas, CUCEI, Universidad de Guadalajara. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1, y perfil PRODEP.

Línea de investigación: Modelado e inversión de datos geofísicos. Ha trabajado en el desarrollo de metodologías de inversión conjunta de datos geofísicos usando técnicas de Optimización, Métodos Numéricos y Ecuaciones Diferenciales Parciales.

• Sean M. Smith Márquez

Estudió arqueología en la UAG, es Maestro en arqueología por el COLMICH y cursa el Doctorado en el Instituto de Investigaciones Antropológicas de la UNAM. Trabajó en Tzintzuntzan con el Dr. Arturo Oliveros, en Querétaro con la Dra. Elizabeth Mejía y Alberto Herrera, En Sayula con la Dra. Susana Ramírez, Dra. Catherin Liot, Dr. Bruce Benz y Dr. Marcus Winter, en Guadalajara con el Mtro. Carlos López y en Guachimontones con el Dr. Phil Weigand. Desde 2008 es coordinador del Proyecto Arqueológico Oconahua. Actualmente es asistente de investigación en el COLMICH-CEQ.

• Abel Palafox González

Doctor en Ciencias con Orientación en Ciencias de la Computación por el Centro

de Investigación en Matemáticas, CIMAT A. C., en 2016. Profesor investigador adscrito al Departamento de Matemáticas, del CUCEI, Universidad de Guadalajara del 2018 a la fecha. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel 1, y perfil PRODEP. Ha trabajado en el desarrollo de herramientas computacionales para la formulación y estudio de problemas inversos en el contexto Bayesiano. Sus áreas de interés comprenden: Cómputo en paralelo, Métodos Numéricos, Ecuaciones Diferenciales Parciales, Problemas Inversos, Inferencia Bayesiana, etc. Actualmente realiza investigación en la aplicación de Ciencia de Datos en problemas inversos.

• **Fernando Becerra López**

Doctor en Matemáticas por la Universidad de Guadalajara. Ha trabajado en diversas áreas, desde la topología algebraica hasta la inteligencia artificial. Actualmente es Profesor de tiempo completo en el Departamento de Matemáticas de la Universidad de Guadalajara.

• **Edgar Alejandro Guerrero Arroyo**

Recibió el grado de Licenciado en Computación por parte de la Universidad de Guanajuato en el 2010. Durante el 2009 realizó un intercambio académico en la Universidad de St. Francis Xavier, en la ciudad de Antigonish, Nova Scotia, Canadá. Al terminar, concluyó los estudios de Maestría en computación y Matemáticas Industriales en el Centro de Investigación en Matemáticas, CIMAT, en Guanajuato, Guanajuato en el 2012. Posteriormente, recibió el grado de Doctor en Ciencias de la Computación en el mismo centro en el 2016. Durante el 2014 realizó una estancia de investigación en el Grupo de Simulación de Depósitos del Departamento de Ingeniería Química y del Petróleo en la Universidad de Calgary en la ciudad de Calgary, Alberta, Canadá. Actualmente es Profesor Investigador Titular A en el Departamento de Matemáticas del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías de la Universidad de Guadalajara.

Líneas de investigación: Modelación numérica de ecuaciones diferenciales y ciencia de los datos.

• **Miguel Ángel Alatorre Zamora**

Nació en Guadalajara, Jalisco, el 30 de noviembre de 1959. Estudió la Licenciatura en Oceanología desde 1979 hasta 1984 en la Escuela Superior de Ciencias Marinas

de la Universidad Autónoma de Baja California. Estudió Maestría en Ciencias en Geofísica Aplicada en el Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada, desde 1985 hasta 1987. Estudió Doctorado en Ciencias (Exploración) en el Instituto de Geofísica de la Universidad Nacional Autónoma de México, obteniendo el grado en 2003. Actualmente se encuentra adscrito al Departamento de Ingeniería Civil, del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, donde desarrolla investigación aplicada en Geofísica en las áreas de arqueología, problemas ambientales y neotectónica (grandes estructuras).

• **Fred Y. Pérez Corona**

Ingeniero en Geología Ambiental por parte de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo en 2008, concluyó estudios de Maestría en Ciencias Aplicadas en el Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT) en 2011 y obtuvo el grado de Doctor en Geociencias Aplicadas por el IPICYT en 2020. Actualmente es profesor por asignatura de la Licenciatura en Ingeniería en Geología Ambiental, del Área Académica de Ciencias de la Tierra, del Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Ha trabajado en el análisis, interpretación y modelación de datos geofísicos de regímenes hidrotectónicos. Sus líneas de interés son la Exploración-Modelación Geológica y Geofísica (Métodos Potenciales, Métodos Eléctricos y Electromagnéticos), Hidrogeología y Tectónica.

• **Israel Alberto Dávila Rodríguez**

Estudiante de la Maestría en Ciencias en Matemáticas en el Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías (CUCEI) de la Universidad de Guadalajara. Ha trabajado en inversión de datos magnéticos mediante técnicas Bayesianas y mediante estrategias evolutivas. Sus áreas de interés se dirigen a inversión de datos geofísicos (gravimetría, magnetometría y resistividad eléctrica) utilizando tanto métodos Bayesianos, como Estrategias Evolutivas y de Machine Learning.

3. La lipasa de papaya y su eficacia como catalizador en diversas reacciones de síntesis de interés industrial

• Georgina Sandoval Fabián

Ing. Química por la Universidad de Guadalajara y Doctora en Biología, Salud y Biotecnología por el Instituto Nacional de Ciencias Aplicadas (INSA, Toulouse, Francia). Investigadora Titular en la Unidad de Biotecnología Industrial del CIATEJ. Responsable del Laboratorio de Innovación en Bioenergéticos y Bioprocesos Avanzados (LIBBA). Sus líneas de investigación versan sobre Biocatálisis Industrial y Metabolitos Microbianos, con aplicaciones en los campos de Nutraceuticos, Biopolímeros y Biocombustibles, entre otros. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel III. Pertenecer a diversas redes y sociedades científicas tanto nacionales como internacionales, entre las cuales ha coordinado acciones y redes en el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) y CONACYT.

• Ivanna Yvonne Rivera Espinosa

Es Doctora en Ciencia y Tecnología por el Posgrado Interinstitucional en Ciencia y Tecnología; doctora en Ciencias Biológicas, Veterinarias, Agronómicas y Biotecnología con especialidad en Enzimología por el Instituto Nacional de Ciencias Aplicadas de Toulouse. De igual forma, realizó varias estancias en el extranjero concretamente en Madrid, España.

La mayor parte de su carrera profesional la ha desarrollado en el área de investigación sobre todo en enzimología concretamente en el estudio de las lipasas. Donde ha tenido la oportunidad de conocer y desarrollar técnicas de análisis microbiológicos y de proteínas incluyendo procesos de producción/ fermentación, clonación, purificación, cristalografía. Además, ha trabajado la oportunidad de trabajar en reacciones de interés industrial catalizadas por estas enzimas incluyendo producción de biodiesel, lípidos estructurados, nutraceuticos, precursores de medicamentos y polímeros.

4. Herramientas Bioinformáticas para el Análisis de Mutaciones en Secuencias de ADN de Staphylococcus aureus

• Juan Fernando Hernández Amador

Realizó sus estudios de educación media superior en el Colegio de Estudios Científicos y Tecnológicos del Estado de Jalisco (CECYTEJ) donde obtuvo su título técnico en "Análisis y tecnología de los alimentos ". Posteriormente realizó una Licenciatura en "Químico Farmacéutico Biólogo" en el Centro Universitario UNE A. C. al mismo tiempo que iniciaba su estancia como becario en el Centro Analítico de Patología (CAPSA), en donde actualmente se desempeña. Además, realizó su tesis profesional en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), en la Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica.

• Gabriel Alonso Moran Marroquín

Docente y coordinador de la Licenciatura de Químico Farmacéutico Biólogo en la Universidad de Especialidades (UNE, plantel Tesistán), integrante del Sistema Intermunicipal de Agua Potable y Alcantarillado (SIAPA), tiene su formación académica en la Universidad de Guadalajara (U de G) como Licenciado Químico así mismo cuenta con una Maestría en Ciencias en Procesos Agroindustriales en el Posgrados Interinstitucional en Ciencia y Tecnología (PICyT).

Ha publicado en revistas científicas, en donde destaca "Effect of dilution rate and nutrients addition on the fermentative capability and synthesis of aromatic compounds of two indigenous strains of *Saccharomyces cerevisiae* in continuous cultures fed with agave tequilana juice. International journal of food microbiology".

• Ikuri Álvarez Maya

Doctora en Ciencias en Biología Celular. Investigadora Titular en CIATEJ, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, perteneciente a los Centros Públicos de Investigación de CONACYT. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel I. Líneas de Investigación, Biología Molecular, Epidemiología Molecular, Secuenciación Genómica Completa. Ha publicado en revistas indexadas, tiene más de 30 congresos nacionales e internacionales, y ha contribuido a la formación de estudiantes en diferentes niveles de posgrado, tiene

3 capítulos de libro. Cuenta con estancia post-doctoral en Department of Virology, Children's Hospital of Eastern Ontario CHEO, Ottawa, Canada. Además de una primera estancia Post-Doctoral en NRC University of Alabama at Birmingham UAB. Alabama, USA. Ha dirigido proyectos financiados por CONACYT en el área de Tuberculosis. Cuenta con más de 634 citas bibliográficas.

5. Desarrollo y aplicación de un sistema en continuo para la inactivación de microorganismos mediante fluidos supercríticos asistidos por ultrasonidos de potencia

• Ingrid Paniagua Martínez

La Dra. Ingrid Paniagua Martínez, es Ingeniero Químico por el Instituto Tecnológico de Orizaba (2003-2007), M.C. en Ingeniería Bioquímica (2008-2011) y Dra. en Ciencias en Alimentos (2012-2017) por la Unidad de Investigación y Desarrollo de Alimentos (UNIDA) del Instituto Tecnológico de Veracruz, así como Dra. en Ciencia, Tecnología y Gestión Alimentaria (2012-2017) por la Universidad Politécnica de Valencia, España. Su principal línea de investigación ha sido la inactivación de microorganismos, conservación de alimentos y la extracción de compuestos bioactivos empleando tecnologías no térmicas, específicamente: CO₂ como fluido supercrítico, ultrasonidos de potencia y pulsos eléctricos, desarrollando las tecnologías de manera individual y combinada, buscando siempre, la intensificación y mejora de los procesos. Fue catedrático de la Universidad Veracruzana durante los años 2017 a 2019. Desde marzo de 2019 realiza una estancia postdoctoral en la Universidad Politécnica de Valencia, donde sigue desarrollando estudios basados en su principal línea de investigación. Ha participado en más de 30 congresos nacionales e internacionales. Desde 2019 es miembro del Sistema Nacional de Investigadores (Nivel Candidato). A lo largo de su vida académica, ha formado a varios estudiantes de licenciatura y maestría de instituciones nacionales y del extranjero.

• Alejandra Ramírez Martínez

La Dra. Alejandra Ramírez Martínez cursó sus estudios de Ingeniería (Ing. Bioquímica, 2000-2004), y Maestría en Ciencias (en Ingeniería Bioquímica, 2005-2007) en el Instituto Tecnológico de Veracruz. La Dra. Ramírez cursó entre los años 2007-2011 estudios de doctorado en ciencias en la Unidad de Investigación y

Desarrollo de Alimentos y la Université de Montpellier 2 sobre temas para disminuir el posible rechazo de lotes de café por instancias internacionales. Entre los años 2012-2014 cursó un posdoctorado en la Université de la Bretagne Occidentale en donde trabajó temas relacionados con la exposición y consumo de alimentos en donde adquirió experiencia sobre la cuantificación de los alimentos consumidos y la exposición de diversas poblaciones a componentes de los alimentos. Desde 2018 es profesor investigador del Colegio de Postgraduados campus Veracruz. Actualmente, es miembro del Sistema Nacional de Investigadores (Nivel I), y ha trabajado en proyectos para la cuantificación de pérdidas de alimentos en la cadena agroalimentaria, y riesgo y exposición a productos químicos en el marco de la seguridad alimentaria. A lo largo de su carrera a formado a varios jóvenes de licenciatura, maestría y doctorado de instituciones nacionales y del extranjero.

6. Empleo de enzimas lignocelulósicas para la revalorización de residuos agroindustriales

• José Ángel García Béjar

Ing. Biotecnólogo egresado del Instituto Politécnico Nacional, campus Guanajuato, México (2013-2017), donde orientó sus intereses de investigación en la prospección de propiedades nutraceuticas de oligosacáridos no-digeribles obtenidos a partir de nopal. Actualmente cursa el programa de maestría en Ciencias en Innovación Biotecnológica con especialidad en Biotecnología Agroalimentaria en el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ A.C.), donde trabaja en el desarrollo de procesos para la producción de etanol lignocelulósico a partir de residuos agroindustriales, bajo la dirección de la Dra. Lorena Amaya Delgado.

• Georgina Sandoval

Ing. Química por la Universidad de Guadalajara y Doctora en Biología, Salud y Biotecnología por el Instituto Nacional de Ciencias Aplicadas (INSA, Toulouse, Francia). Investigadora Titular en la Unidad de Biotecnología Industrial del CIATEJ. Responsable del Laboratorio de Innovación en Bioenergéticos y Bioprocesos Avanzados (LIBBA). Sus líneas de investigación versan sobre Biocatálisis Industrial y Metabolitos Microbianos, con aplicaciones en los campos de Nutraceuticos, Biopolímeros y Biocombustibles, entre otros. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel III. Pertenece a diversas redes y sociedades científicas tanto

nacionales como internacionales, entre las cuales ha coordinado acciones y redes en el Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) y CONACYT.

• **Lorena Amaya Delgado**

Ing. Bioquímica egresada del Instituto Tecnológico de Tuxtepec, maestra y doctora en Biotecnología por el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. Investigadora Titular en la Unidad de Biotecnología Industrial del CIATEJ. Sus líneas de investigación se enfocan en el diseño de procesos biotecnológicos para la obtención de metabolitos de interés industrial por vía fermentativa (biocombustibles, enzimas lignocelulasas, entre otros), con particular interés en la fisiología microbiana. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel I y Project Management Professional certificada por el Project Management Institute.

7. La salud como un derecho fundamental ante el COVID 2019 y futuras pandemias

• **Rocío Calderón García**

Doctora en Cooperación y Bienestar Social por la Universidad de Oviedo, España, Maestra en Gestión de la Ciencia e Innovación Tecnológica por la Universidad Politécnica de Valencia, Experta en Cultura Científica y Divulgación, por la Organización de Estados Iberoamericanos y la Universidad de Oviedo, España, Miembro de la Academia Jalisciense de Ciencia, del Sistema Nacional de Investigadores y del Instituto Mexicano de Gestión de la Ciencia e Innovación Tecnológica, Profesora e Investigadora adscrita al Departamento de Estudios Internacional del Centro Universitario de Ciencias Sociales y Humanidades de la Universidad de Guadalajara, líneas de investigación: Innovación Social, Cultura Científica, Gestión del Conocimiento, Impulso y fortalecimiento de los posgrados.

• **Jorge Alfredo Jiménez Torres**

Abogado por la Universidad de Guadalajara, Maestro en Derecho civil y financiero por la misma institución, Doctor en Ciencias del Desarrollo Humano por la Universidad del Valle de Atemajac. Coordinador de desarrollo curricular de la licenciatura en derecho de la UNIVA (2001-2008), profesor a nivel licenciatura y posgrado en materias de Derecho internacional público, privado y metodología

de la investigación en la misma institución (1997-2015); profesor de la escuela de Derecho de la Universidad Panamericana, impartí las materias de Derecho internacional público y Ciencia Política (1998-2008). Desde el año 2008 a la fecha, profesor investigador en el Departamento de Justicia y derecho del CUCIENEGA de la Universidad de Guadalajara. Miembro de la Academia Mexicana de Derecho internacional privado y comparado y de la Academia Jalisciense de Ciencias.

8. Efecto de la administración de lípidos dietarios sobre el síndrome metabólico en modelos murinos

• Rosa María Oliart Ros

Doctora en Ciencias (Biología). Profesora Investigadora de tiempo completo en el Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Veracruz. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel II y de la Academia Mexicana de Ciencias; Perfil Deseable PRODEP. Jefa del Laboratorio de Bioquímica de la Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos. Líneas de Investigación: Efecto de lípidos dietarios en enfermedades crónico degenerativas (síndrome metabólico, cáncer, enfermedad de Parkinson); Aislamiento y análisis de potencial biotecnológico de bacterias de medios ambientes extremos. Miembro fundador de la Red Mexicana de Organismos Extremófilos, miembro de la Red Hábitos alimenticios y actividad física de jóvenes en México. Ha dirigido 12 tesis de Licenciatura, 37 tesis de Maestría y 19 de Doctorado; cuenta con 57 publicaciones internacionales indexadas y siete capítulos de libros internacionales, así presentaciones en congresos, y conferencias.

• María del Socorro Herrera Meza

Investigadora titular "C" adscrita al Instituto de Investigaciones Psicológicas en la Universidad Veracruzana. Maestra en Ciencias Alimentarias por la Universidad Veracruzana y Doctora en Ciencias en Alimentos por el Instituto Tecnológico de Veracruz. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel I y perfil deseable SEP-PRODEP. Las líneas de investigación que maneja son lípidos alimentarios y sus implicaciones en la salud, síndrome metabólico y obesidad en ratas y conducta alimentaria. Ha participado en la dirección de tesis de Doctorado, Maestría, Licenciatura e imparte cursos de docencia en posgrado. Cuenta con diversas publicaciones originales en revistas científicas indexadas, capítulos de libros y artículos de divulgación científica. Es la encargada del laboratorio del de conducta

alimentaria del Instituto donde encuentra adscrita.

• **María Guadalupe Sánchez Otero**

Doctorado en Ciencias en Alimentos (2011). Profesora de tiempo completo en la Facultad de Bioanálisis de la Universidad Veracruzana (2010 a la fecha). Miembro del SNI (desde 2013), Perfil Deseable PRODEP (desde 2011). Línea de Investigación: Identificación y purificación de lipasas de organismos extremófilos y su aplicación biotecnológica; así como el estudio de nuevas fuentes de ácidos grasos con potencial nutraceutico; Miembro fundador de la Red Mexicana de Organismos Extremófilos, miembro de la Red de Investigación de Medicinas complementarias de la Secretaría de Salud del Estado y de la Asociación Mexicana de Microbiología. Ha dirigido 40 tesis de Licenciatura, y ha participado en la asesoría de seis tesis de Maestría y dos de Doctorado; cuenta con 15 artículos internacionales indexados y cuatro capítulos de libros internacionales.

• **Karla Roxana Reyes Saldaña**

Estudiante del Doctorado en Ciencias en Alimentos en el Instituto Tecnológico de Veracruz. Maestra en Ciencias en Ingeniería Bioquímica. Líneas de investigación enfocadas en la administración de ácidos grasos dietarios para evaluar el perfil epigenético y metabólico de diversos grupos murinos dentro de los cuales destacan ratas Zucker y ratas Wistar con síndrome metabólico. Actualmente encargada del área de coordinación de estudios clínicos en un Centro de Investigación Clínica donde se llevan a cabo diversos protocolos enfocados a vacunas en fase III de investigación versus COVID-19, así como tratamientos oncológicos en fase II y fase III de investigación principalmente.

• **Abril Ramírez Higuera**

Cátedra CONACYT adscrita al Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Veracruz, responsable del Laboratorio de Bioquímica de la Nutrición-UNIDA, Doctora en Ciencias en Biotecnología y Maestra en Ciencias en Bioprocesos por el Instituto Politécnico Nacional. Colaboró activamente dentro del Cuerpo Académico de Biotecnología, línea de investigación: Estudios nutrigenéticos, funcionales y toxicológicos de alimentos. Formo parte de la red de Hábitos Alimenticios y Actividad Física de Jóvenes en México. He participado

como revisora en comités de revistas de interés científico, así como direcciones y codirecciones de tesis de licenciatura y posgrado, he sido invitada a más de 5 conferencias en congresos nacionales e internacionales.

9. Producción de una proteína recombinante compuesta por un dominio VNAR anti TGF- β y la chaperona tioredoxina

• Mirna Burciaga Flores

Es Ingeniera en Biotecnología por parte de la UPGOP, cursó la Maestría en Ciencias en Innovación Biotecnológica con opción terminal en Biotecnología Médica y Farmacéutica (CIATEJ). Actualmente es estudiante del Doctorado en Ciencias en Innovación Biotecnológica con opción terminal en Biotecnología Aplicada a la Salud (CIATEJ). Ha publicado un artículo de revisión como autor principal, así como varias memorias en extenso, ha realizado estancias de investigación, docencia a nivel licenciatura y posgrado. También, ha participado en eventos de divulgación de la ciencia para niños y profesionales. Joven comprometida con el desarrollo de la ciencia en México. <https://www.researchgate.net/profile/Mirna-Burciaga-Flores>

• Elisa Fuentes Medina

Es Ingeniera Biotecnóloga por la UAG. Realizó su tesis de licenciatura en CIATEJ enfocada en la producción de proteínas recombinantes empleando técnicas de biología molecular, ingeniería de anticuerpos y microbiología. Con dotes culinarios excepcionales, especialmente en la repostería. Actualmente labora en una industria farmacéutica privada como analista químico.

• Tanya Amanda Camacho Villegas

Es Bióloga por la Facultad de Ciencias de la UABC, realizó su Maestría en Ciencias en Biotecnología Marina en CICESE y su Doctorado en Ciencias en la Facultad de Ciencias Marinas de la UABC, reconocida con mención honorífica y Mérito escolar. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel 1 desde 2019. Tiene experiencia probada en la selección y caracterización de dominios vNAR, así como en otros formatos de anticuerpos. Labora como Cátedra CONACYT adscrita a CIATEJ como líder de grupo. Ha titulado estudiantes de posgrado, publicado artículos científicos en revistas indexadas. Además, ha sido responsable técnico de proyectos vinculados a empresas y colaboradora de diversos proyectos de

fondos. Autora de diversas patentes nacionales e internacionales, cuenta con dos transferencias tecnológicas. Ha participado en diversos eventos de divulgación de la ciencia para niños y profesionales, así como en ponencias orales en congresos nacionales e internacionales. Mujer con vocación de servicio y aptitudes para la ciencia, comprometida con el desarrollo racional del país mediante sus investigaciones y la formación de nuevos talentos. ORCID: 0000-0002-0540-0287; <https://www.researchgate.net/profile/Tanya-Camacho-Villegas>

10. Factibilidad y diseño de un proceso biocatalítico para la producción de un biopolímero a base de residuos de cutícula de jitomate

• Bárbara Isabel Mora Cortés

Estudió la licenciatura en Ingeniería Bioquímica en el Instituto Tecnológico de Veracruz. Asistió al XVI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería, en Guadalajara, Jalisco. Participó en el curso de Aceites Esenciales como Método de Control de Hongos Toxigénicos en Granos Almacenados. Realizó su servicio escolar en el Evento Nacional Estudiantil de Innovación Tecnológica (ENEIT) 2019. Desempeñó su tesis, titulada "Diseño de un techo verde para el edificio "F" del TecNM-ITVer utilizando plantas de la familia Crassulaceae, en base a datos experimentales y predictivos de balances de masa y térmicos". Efectuó sus residencias profesionales en el Laboratorio de Genética Aplicada. Actualmente es egresada del Instituto Tecnológico de Veracruz, con especialidad en Bioingeniería en Ambiental-Energía.

• Carolina Peña Montes

Realizó la licenciatura en Química de Alimentos y la Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas en la Facultad de Química de la UNAM. Estancia de investigación de 3 años en el Instituto de Bioquímica técnica (ITB), Stuttgart, Alemania durante la realización del Doctorado. Ella trabajó como Profesor en Facultad de Química, UNAM por 10 años. Actualmente es Profesora Investigadora Titular C del Tecnológico Nacional de México, campus Veracruz, Jefa de Laboratorio de Genética Aplicada con Perfil Deseable PRODEP y SNI nivel 1.

• **Dolores Reyes Duarte**

Estudió la licenciatura en Ingeniería Bioquímica en el Instituto Tecnológico de Veracruz y el doctorado en Ciencias Bioquímicas en el Instituto de Biotecnología de la UNAM. Realizó un posdoctorado en el Departamento de Biocatálisis del Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, Consejo Superior de Investigación Científica. Madrid, España. Ha realizado estancias de investigación en la UNIDA del Instituto Tecnológico de Veracruz-TecNM y en la Universidad Pontificia Católica de Valparaíso en Chile. Actualmente es profesora-Investigadora Titular C por tiempo indeterminado en el Laboratorio de Biotecnología (Biocatálisis) del Departamento de Procesos y Tecnología de la División de Ciencias Naturales e Ingeniería de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa (UAM-C), con Perfil Deseable PRODEP y SNI nivel 1.

Propiedades fisicoquímicas de las hormigas crudas y asadas (*Atta mexicana*) y su aceptación en comunidades rurales

Ramírez Martínez A.^{1a}, Paniagua Martínez I.²

¹ Colegio de Postgraduados-Campus Veracruz, Posgrado en Agroecosistemas Tropicales, Km. 88.5 Carretera federal Xalapa-Veracruz, Tepetates, Municipio de Manlio Fabio Altamirano, 91700 Veracruz, México

² Grupo de análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de Valencia, Camino de Vera S/N, E46022, Valencia, Spain

^a Autor de correspondencia: ramirez.alejandra@colpos.mx

Palabras clave: *Atta mexicana* (cruda, tostada), propiedades fisicoquímicas, consume

Resumen

Los valores nutricionales de *Atta mexicana* (hormigas chicatanas) son similares a los que se encuentran en la carne. Como otros insectos, los consumidores los tuestan para su consumo y conservación. Este proceso puede generar cambios beneficiosos en los alimentos; sin embargo, también puede causar la destrucción de ciertos componentes nutricionales. Así, el objetivo principal del presente trabajo fue analizar algunas de las principales propiedades fisicoquímicas de las hormigas chicatanas crudas y asadas de un sitio ubicado en las altas montañas del estado de Veracruz. El proceso de tostado se realizó como suele realizarse en el lugar de donde se tomaron las muestras. También investigamos el nivel de consumo y aceptación en varias localidades cercanas a este sitio mediante una encuesta. Se observaron diferencias significativas entre el contenido de proteínas y grasas debido al proceso de tostado ($p > 0.05$). Las pruebas de tostado también revelaron que el cambio de color estaba relacionado con la pérdida de humedad y el aumento de la temperatura. Además, el proceso no afectó el perfil de ácidos grasos ($p > 0.05$). Las encuestas de consumo y aceptación revelaron que los entrevistados aprecian mucho el sabor de *Atta mexicana* y que su consumo ha disminuido debido a la disminución de la lluvia.

Introducción

El consumo de insectos, llamado entomofagia, se practica desde hace muchos años en países tropicales de América Latina, África y Asia (China, Tailandia, Laos y Japón) (Chen et al., 1998; Hartmann et al., 2015; Hanboonson y Durst, 2014; Payne, 2015; Raheem et al., 2019) y en épocas más recientes, en algunos países europeos. Las hormigas se encuentran entre las especies de insectos de interés para el consumo humano que no se analizan comúnmente (Williams et al., 2016). Estudios realizados en especies de hormigas como *Atta mexicana*, han demostrado que tienen altos niveles de proteínas (De Guevara et al., 1995), ácidos grasos omega-3 (Reyes-Prado et al., 2016), minerales y vitaminas (Ramos-Elorduy y Pino-Moreno, 2001). Puede haber una pérdida en las propiedades nutricionales de *Atta mexicana* dependiendo de las condiciones utilizadas durante el proceso de tostado artesanal. *Atta mexicana* puede ser una fuente rica en proteínas tanto en áreas rurales como urbanas o donde la población esté dispuesta a comerlas. De hecho, se han realizado pocas investigaciones sobre el nivel de consumo y aceptación de *Atta mexicana*. Así, el objetivo principal del presente trabajo fue analizar algunas de las principales propiedades fisicoquímicas de las chicatanas crudas y tostadas (*Atta mexicana*) (contenido de humedad, color, proteína, grasa, cenizas y ácidos grasos) de un sitio ubicado en las montañas del estado de Veracruz (Huatusco de Chicuellar). También analizamos los principales factores que pueden explicar la aceptación del insecto en la población que habita el sitio del cual tomamos muestras. Hasta donde sabemos, esta es la primera vez que se informarán las principales propiedades fisicoquímicas durante el tostado de *Atta mexicana*.

Desarrollo

El consumo en un acto socialmente ritualizado en el que la apropiación de los bienes y servicios, en correlación con los puntos de venta y escenarios de consumo, adquieren significados diferenciados para los diversos actores sociales, consumidores, compradores, usuarios, grupos primarios y secundarios, intermediarios, entre otros. Desde una perspectiva antropológica, el consumo se define como el conjunto de procesos socioculturales en que se realiza la apropiación y los usos de los productos. El acto de consumo y el consumir es algo más que la mezcla de gustos, antojos o compras irreflexivas; el acto del consumo, visto como un proceso de significación, es generado por las relaciones entre los actores sociales, los bienes de consumo y los espacios de adquisición (Vélez-

Zapata, 2008). De esta manera, la antropología de consumo estudia los elementos socioculturales que intervienen en el fenómeno del consumo, desde las prácticas y usos de la apropiación de los productos hasta las dinámicas de interacción en los espacios de adquisición de éstos (Vélez Zapata, 2008).

En el caso del consumo de alimentos, diversos factores extrínsecos e intrínsecos influyen en la aceptabilidad, y, por ende, el consumo de un alimento. La composición, color, olor y sabor de un alimento constituyen los principales factores intrínsecos que afectan la aceptabilidad de un alimento. La publicidad, precio, cultura y tradición son los principales factores extrínsecos que determinan la aceptabilidad (Ibáñez, 2001).

Entorno metodológico

Origen de las muestras

Las muestras de *Atta mexicana* utilizadas en el presente trabajo (1 kg cada una) procedían de una región montañosa del estado de Veracruz, México (Huatusco de Chicuellar). Las muestras se congelaron y se transportaron al laboratorio donde se retiraron manualmente las alas y patas de las hormigas. Todos los análisis se realizaron con estas muestras.

Métodos fisicoquímicos

El contenido de humedad del producto se determinó por el método de AOAC (1990), en el cual las muestras se introducen en un horno y se someten a una temperatura de 105 °C hasta que dos pesos consecutivos difieren de menos de 10^{-4} g. El porcentaje del contenido total de proteína en el material seco se determinó mediante el método micro-Kjeldahl. El contenido de cenizas de las muestras se determinó en una submuestra de 5 g mediante un horno de mufla a 550 °C según la norma ISO 1171-1981. Las muestras de color se midieron con un colorímetro Hunter Lab (modelo MiniScan XE plus; Hunter Associates Laboratory, Retson, VA, EE. UU). El color experimental se determinó mediante el modo de reflectancia y se expresó mediante los parámetros L-a-b.

El contenido total de aceite en las muestras de hormigas se determinó por el método Soxhlet de acuerdo con la Norma Mexicana NMX-F-089-S-1978.

Cinética de secado-tostado

En la primera etapa, investigamos la temperatura a la que se iba a realizar la cinética de secado-tostado. Para lograr este objetivo, visitamos a diez amas de casa que solían asar *Atta mexicana*. Todas estas mujeres vivían en la región estudiada. Inicialmente, las mujeres calentaron una olla de barro y después de unos minutos, pusieron una cantidad de *Atta mexicana* para cubrir el fondo de la olla de barro. Luego, mezclaron las hormigas con una cuchara de madera durante 20-30 min y mantuvieron la temperatura constante. Encontramos que, en promedio, la temperatura utilizada para tostar *Atta mexicana* fue de 95 ± 3 °C. Esta temperatura la utilizamos en las pruebas de secado-tostado realizadas en laboratorio. Después de que la olla de barro alcanzó los 95 °C, cubrimos el fondo de la olla de barro con las hormigas (300 g). Posteriormente, tomamos muestras de 10 g cada 10 minutos hasta 30 minutos y medimos la temperatura de la capa formada por las hormigas, así como las propiedades fisicoquímicas mencionadas anteriormente. La temperatura se midió con un termómetro infrarrojo. Asamos nuestras muestras de *Atta mexicana* en el mismo tipo de olla de barro usando la misma cuchara de madera que habían usado las amas de casa. Se repitieron tres pruebas de tostado diferentes dos veces cada una.

Encuestas de consumo y aceptación de *Atta mexicana*

Se realizaron encuestas con el fin de analizar el consumo, aceptación, captura, compra y venta de *Atta mexicana*. Las localidades cercanas a Huatusco y otros municipios que fueron visitados fueron seleccionados al azar a través de un programa R.

El nivel de aceptación del sabor, olor, color y crujiente de *Atta mexicana* se evaluó mediante una escala hedónica de 7 puntos. También se pidió a los encuestados que mencionaran otro alimento con un sabor similar al de *Atta mexicana*.

Análisis estadístico

Se realizaron pruebas de análisis de varianza de una vía (ANOVA) con un nivel de confianza del 95.0%, así como pruebas de Duncan para analizar las diferencias en los parámetros fisicoquímicos y la aceptación de *Atta mexicana*. Las pruebas se llevaron a cabo utilizando el software R.

Resultados y conclusiones

Análisis fisicoquímico de muestras crudas de *Atta mexicana*

La Tabla 1.1 muestra los parámetros fisicoquímicos de *Atta mexicana* medidos en muestras en el presente estudio y otros valores reportados en trabajos anteriores. En general, los valores de los parámetros fisicoquímicos determinados en las muestras crudas de *Atta mexicana* coinciden con los reportados en otros trabajos, particularmente con los valores encontrados por Melo-Ruiz et al. (2018). En otros trabajos se han observado diferencias en los valores nutricionales dentro de una misma especie de insecto (Williams et al., 2016), atribuyéndose a la técnica empleada en la determinación de las propiedades nutricionales, el origen de las muestras, el sexo y la etapa de las hormigas (adultas, pupas, huevos, reina). Los resultados de la Tabla 1.1 se obtuvieron en muestras en la misma etapa de metamorfosis (adultos) y utilizando las mismas técnicas estándar (AOAC). En este sentido, tenga en cuenta que las diferencias en los resultados dentro de las muestras en el mismo estado son menores que las encontradas en muestras de diferentes estados. Esto sugiere que el contenido nutricional de *Atta mexicana* también puede estar influenciado por otros factores además de los antes mencionados, lo que resalta la necesidad de más estudios sobre el tema.

Tabla 1.1 Propiedades fisicoquímicas de muestras crudas de *Atta mexicana* en base seca (g / 100 g de muestra seca)¹ y en base húmeda (g / 100 g de muestra)²

Autores	Origen/ etapa	Contenido de humedad	Contenido de proteínas	Contenido de grasas	Cenizas
Melo-Ruiz et al., 2018 ¹	Oaxaca Adults	46.79	31.88	34.65	-
Ramos-Elorduy & Pino-Moreno, 2001 ¹	Chiapas NS	-	38.75±0.7	30.60±0.9	-
Ramos-Elorduy, et al., 2002 ¹	Hidalgo Adults	-	41.90±0.8	31.20	3.48
Reyes-Prado et al., 2016 ¹	Morelos Adults	-	43.17	38.55	3.75
Barrera-Molina, 2019 ²	Morelos NS	-	46.3	39.22	-
Melo-Ruiz et al., 2011 ¹	NS Adults	-	66	24.02	3
De Guevara et al., 1995 ¹	NS Adults	-	46.3	-	-
Williams et al., 2016 ²	Reproductive adults NS	46	39	-	4
Present study ¹	Huatusco, Veracruz Adults	43.61±0.39	35.66±0.23	23.88±1.26	2.29±0.05

Cinética de tostado de *Atta mexicana*

La Figura 1.1 muestra los cambios del contenido de humedad, el color y la temperatura de las muestras de *Atta mexicana* durante el proceso. La disminución del contenido de humedad coincide con el aumento de la temperatura y el cambio de color de las muestras de chicatanas (Figura 1.1). En particular, durante los primeros diez minutos, el cambio de color aumenta debido al rápido aumento de la temperatura de las muestras, seguido de un menor cambio de color debido, nuevamente, a un menor aumento de la temperatura de las muestras (minutos 10 a 20). lo que puede atribuirse a una disminución en la evaporación del agua (Gou et al., 2000).

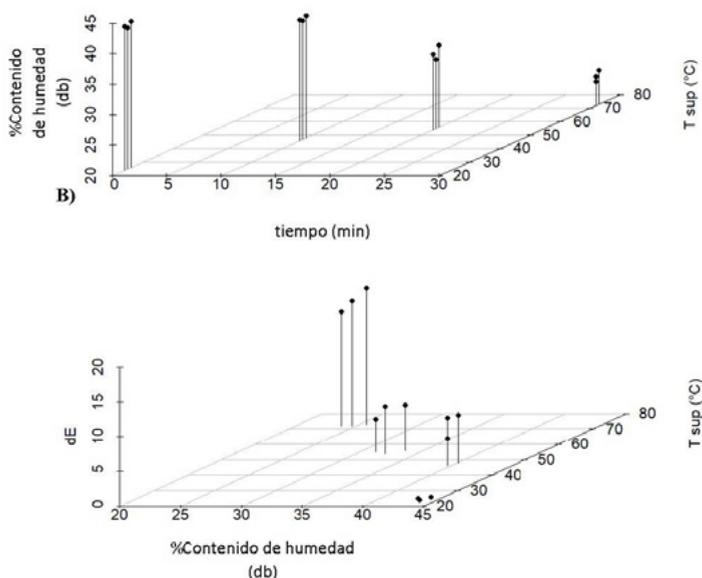


Figura 1.1 Contenido de humedad, el color y la temperatura de las muestras de *Atta mexicana* durante el proceso

La Tabla 1.2 muestra los parámetros físicos y químicos de otros parámetros medidos durante el tostado de muestras crudas de *Atta mexicana*. El análisis estadístico reveló que el tostado empleado en el presente estudio disminuyó significativamente el contenido de proteína cruda ($p < 0.05$). Al igual que en el caso del contenido de humedad, el contenido de proteína se relacionó significativamente tanto con el tiempo ($r = -0.999$, $p < 0.05$) como con la temperatura de las hormigas (-0.977 , $p < 0.05$). El contenido de cenizas no se vio afectado por el proceso ($p > 0.05$) y el contenido de grasa aumentó ($p < 0.05$). Los informes sobre el contenido de proteínas de los insectos asados son contradictorios. Según Maditsera et al. (2019) y Caparros-Megido et al. (2018) ni el asado de insectos en sartén (*Eulipida mashona* y *Henicus whellani*) ni la cocción al horno (*Tenebrio molitor* L. 1758) de insectos afectaron el contenido de proteínas. Sin embargo, Madibela et al. (2007) observaron una reducción en la proteína cruda. Manditsera et al. (2019) también realizaron el tostado durante

30 minutos y con la misma cantidad de insectos que usamos. Como estudiaron diferentes especies de insectos y no informaron la temperatura al principio o al final del proceso, no podemos comparar directamente nuestros hallazgos con los de ellos. Sin embargo, la temperatura que alcanzaron las muestras de hormigas chicanas durante nuestro proceso estuvo por encima de la que puede provocar el despliegue de ciertas proteínas (60°C) (72.5 °C at = 30 min, Figura 1.1). En el mismo orden de ideas, Madibela et al. (2007) sometieron sus muestras a altas temperaturas que podrían provocar la reducción del contenido de proteínas de las muestras. Por otro lado, Caparros-Megido et al. (2018) secaron sus muestras durante el mismo tiempo que nosotros (30 min), pero su sistema (un horno a 70°C) se calentó a una temperatura menor que nuestra sartén (95°C), por lo que podemos asumir lógicamente que el contenido de proteína en el horno no se vio afectado.

Tabla 1.2 Parámetros físicos y químicos de muestras de *Atta mexicana* determinados durante el proceso de tostado (base seca).

Tiempo (min)	Contenido total de proteína (g N/100 g base seca)	Contenido de grasa (g grasa/100 g base seca)	Contenido de cenizas (g cenizas/100 g base seca)
0	35.66±0.23 ^a	23.88±1.26 ^c	2.29±0.05 ^a
10	34.65±0.03 ^{ab}	42.20±0.52 ^a	2.13±0.04 ^a
20	33.33±0.49 ^{bc}	38.90±0.28 ^b	2.17±0.09 ^a
30	32.21±0.85 ^c	37.45±0.22 ^b	2.14±0.79 ^a

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

El contenido de cenizas no cambió durante el tostado (Tabla 1.2). Este comportamiento también ha sido observado por Caparros-Megido et al. (2008) y Aniebo y Owen (2010). Por el contrario, el contenido de grasa aumentó (Tabla 1.2). Aunque este no es el comportamiento habitual que se observa al tostar otros insectos (Rumpold y Schlüter, 2013; Shockley y Dossey, 2014; Williams et al., 2016; Kinyuru et al., 2010).

Consumo de *Atta mexicana*

Los entrevistados informaron que el consumo de los habitantes de los municipios y localidades de la región montañosa visitada fue en general alto, común y parte de sus tradiciones (todos adultos entre 29 y 72 años). Los entrevistados pagaron una cantidad de entre 1 y 22 dólares por estos insectos. Casi la mitad de los entrevistados declararon consumir muchas chicatanas durante 2017 y 2018 (40.8% y 53.5%, respectivamente) mientras que solo 0.09% consumieron este nivel de hormigas en 2019. Los entrevistados mencionaron que esta disminución se debió a la falta de lluvia, lo cual coincide con el hecho que el 2019 fue uno de los años más secos registrados en México en los últimos años (CONAGUA, 2020). Estos resultados también sugieren el impacto del cambio climático sobre el consumo de insectos en ciertas comunidades que ya se han reportado en abejas (Castellanos-Potenciano et al., 2017).

La mayoría de los encuestados argumentó que el motivo del consumo de *Atta mexicana* fue su sabor y el hecho de que es una tradición desde hace muchos años en su localidad (98%) que ya se ha observado para alimentos tradicionales en otras comunidades (Espejel-Blanco et al., 2014; Sandoval-Godoy y Camarena-Gómez, 2012). Solo un encuestado declaró que en su localidad consumían este insecto porque eran de producción local y podían ser explotados. El sabor, olor, color y crujiente fueron atributos que los entrevistados consideraron más importantes en el consumo de *Atta mexicana*. Algunos consumidores aprecian en menor grado otras características de las hormigas como su tamaño (37%) y su carnosidad (7%). La importancia del sabor en el consumo de *Atta mexicana* quedó nuevamente confirmada cuando les pedimos que categorizaran cuánto les gustaba o no les gustaba el sabor, olor y crujiente de este insecto (basado en una escala hedónica de 7 puntos). El gusto recibió puntuaciones más altas (6.30 ± 1.12); de hecho, ningún encuestado declaró que no le gustaba el sabor de *Atta mexicana*. Al comparar el color (4.60 ± 1.35), olor (5.31 ± 1.44) y crujiente (5.37 ± 1.22), se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Curiosamente, no se observaron diferencias significativas entre el olor y los atributos de crujiente ($p > 0.05$). En el caso del color, un mayor porcentaje de los encuestados dio más respuestas en la categoría "ni me gusta ni me disgusta" lo que disminuyó los valores generales de este atributo. Melo-Ruiz y col. (2011) reportaron la aceptación del sabor y la textura de *Atta mexicana*. Sin embargo, observamos que, para los habitantes de la región montañosa encuestada, el precio no afectó el nivel de consumo de *Atta mexicana* probablemente debido a que el consumo de este insecto no solo depende de aspectos sensoriales sino

también de aspectos socioculturales tales como la tradición. Curiosamente, el 32% de los encuestados no pudo asociar ningún alimento conocido con el sabor de las hormigas chicatanas. Los otros alimentos que se mencionaron con mayor frecuencia fueron los picantes: especias (17%), chile asado (14%), pescado frito (7%), ajo o cebolla (5%) y ajo (5%). Este resultado sugiere dos cosas: a) algunos lugareños aprecian las hormigas chicatanas porque consideran que su sabor es único, b) están tan acostumbrados a estas hormigas que asocian su gusto con sabores comunes (tradición). Curiosamente, solo el 7% de las mujeres encuestadas venden las hormigas chicatanas que capturan y / o compran, mientras que el 50% de los hombres que capturan y / o compran chicatanas las venden. Estos resultados muestran que las mujeres usan principalmente las chicatanas como alimento, mientras que los hombres no solo las usan como alimento, sino que también comercian con ellas. Estos hombres siempre intentarán quedarse con una parte de las hormigas capturadas para consumir lo que confirma el gran aprecio que los lugareños le dan al consumo de *Atta mexicana*.

Conclusiones

Con excepción del contenido de cenizas y ácidos grasos, se encontraron diferencias significativas entre el contenido de humedad, proteína y grasa durante el tostado de *Atta mexicana*. En particular, el contenido de proteínas disminuyó significativamente durante el proceso. Los resultados también revelaron que el constante giro de las hormigas chicatanas durante el tostado aumentaba el contenido total de grasa. El nivel de consumo de *Atta mexicana* en la población encuestada se vio afectado en los últimos años por la falta de lluvias. Además, esta población aprecia mucho la *Atta mexicana* por su sabor y tradición.

Referencias

1. Aniebo, A. O. and Owen, O. J., 2010. Effects of age and method of drying on the proximate composition of housefly larvae (*Musca domestica* Linnaeus) meal (HFLM). *Pakistan Journal of Nutrition*, 9(5): 485-487.
2. Blanco, J. E. E., Gómez, D. M. J. C. and Godoy, S. A. S., 2014. Alimentos tradicionales en Sonora, México: factores que influyen en su consumo. *INNOVAR. Revista de Ciencias Administrativas y Sociales*, 24(53):127-139.
3. Chen, P. P., Wongsiri, S., Jamyanya, T., Rinderer, T. E., Vongsamanode, S., Matsuka, M. and Oldroyd, B. P. (1998). Honey bees and other edible insects

- used as human food in Thailand. *American Entomologist*, 44(1):24-29.
4. De Guevara, O. L., Padilla, P., García, L., Pino, J. M. and Ramos-Elorduy, J., 1995. Amino acid determination in some edible Mexican insects. *Amino Acids*, 9(2):161-173.
 5. Godoy, S. A. S. and Gómez, D. M. C., 2012. Consumo de alimentos de la población sonorenses: tradición versus internacionalización. *Estudios Sociales. Revista de alimentación contemporánea y desarrollo regional*, 2:55-72.
 6. Gou, P., Diaz, I., Guerrero, L., Valero, A., Arnau, J. and Romero, A. (2000). Physico-chemical and sensory property changes in almonds of Desmayo Largueta variety during toasting/Cambios en las propiedades físico-químicas y sensoriales de almendras de la variedad *Desmayo Largueta* durante el tostado. *Food science and technology international*, 6(1):1-7.
 7. Hartmann, C., Shi, J., Giusto, A. and Siegrist, M., 2015. The psychology of eating insects: A cross-cultural comparison between Germany and China. *Food quality and preference*, 44:148-156.
 8. Ibáñez, F. C. (2001). *Análisis sensorial de alimentos: métodos y aplicaciones*. Taylor & Francis.
 9. Kinyuru, J. N., Nyangena, D., Kamau, E., Ndiritu, A., Muniu, J., Kipkoech, C., Weru, J., Ndung'u, N., and Mmari, M., 2018. The role of edible insects in diets and nutrition in East Africa. In *Edible insects in sustainable food systems*. Springer, Cham., pp. 93-108.
 10. Madibela, O. R., Seitiso, T. K., Thema, T. F., and Letso, M., 2007. Effect of traditional processing methods on chemical composition and in vitro true dry matter digestibility of the Mophane worm (*Imbrasia belina*). *Journal of arid environments*, 68(3):492-500.
 11. Manditsera, F. A., Luning, P. A., Fogliano, V., and Lakemond, C. M., 2019. Effect of domestic cooking methods on protein digestibility and mineral bioaccessibility of wild harvested adult edible insects. *Food Research International*, 121:404-411.
 12. Megido, R. C., Poelaert, C., Ernens, M., Liotta, M., Blecker, C., Danthine, S., Tyteca, E., Haubruge, E., Alabi, T., Bindelle, J. and Francis, F., 2018. Effect of household cooking techniques on the microbiological load and the nutritional quality of mealworms (*Tenebrio molitor* L. 1758). *Food Research International*, 106:503-508.
 13. Melo-Ruiz, V., Garcia, M., Sandoval, H., Jiménez, H. D., and Calvo, C. (2011). Quality proteins from edible indigenous insect food of Latin America and

- Asia. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 23(3):283-289. Available at:
14. Melo-Ruiz, V., Vilchis-Pérez, A., and Sánchez-Herrera, K., 2018. Macronutrient composition of the Chicatana ant (*Atta mexicana*), Edible Insect during the rainy season in Mexico. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering*, 8(6):437-440.
 15. Payne, C. L. R., 2015. Wild harvesting declines as pesticides and imports rise: the collection and consumption of insects in contemporary rural Japan. *Journal of Insects as Food and Feed*, 1(1):57-65.
 16. Pino Moreno, J. M., and Ganguly, A., 2016. Determination of fatty acid content in some edible insects of Mexico. *Journal of Insects as Food and Feed*, 2(1):37-42.
 17. Raheem, D., Carrascosa, C., Oluwole, O. B., Nieuwland, M., Saraiva, A., Millán, R., and Raposo, A., 2019. Traditional consumption of and rearing edible insects in Africa, Asia and Europe. *Critical reviews in food science and nutrition*, 59(14):2169-2188.
 18. Ramos-Elorduy, J., and Pino-Moreno, J. M., 2001. El consumo de insectos entre los lacandones de la comunidad Bethel y su valor nutritivo. *Etnobiología*, 1(1), 24-43.
 19. Ramos-Elorduy, J., Pino, J. M., and Morales de León, J., 2002. Análisis químico proximal, vitaminas y nutrimentos inorgánicos de insectos consumidos en el estado de Hidalgo, México. *Folia entomológica mexicana*, 41(1): 15-29. Available at:
 20. Reyes-Prado, H., Pino-Moreno, J. M., García-Pérez, Á., and Carlos, S., 2016. Determinación del valor nutritivo de las hormigas "chicatanas" *Atta mexicana* S. 1858 (*Hymenoptera-Formicidae*) en el estado de Morelos, México. *Entomología mexicana*, 3: 770-774.
 21. Rumpold, B. A., and Schlüter, O. K., 2013. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular nutrition & food research*, 57(5):802-823.
 22. Shockley, M., and Dossey, A. T., 2014. *Insects for human consumption. In Mass production of beneficial organisms*, Academic Press, pp. 617-652.
 23. Vélez Zapata, C. P. (2008). Rompiendo la tradición: De describir la conducta de compra a comprender al consumidor. *Pensamiento & gestión*, (24), 1-28.
 24. Williams, J. P., Williams, J. R., Kirabo, A., Chester, D., and Peterson, M., 2016. Nutrient content and health benefits of insects. In *Insects as sustainable food ingredients*, Academic Press, pp. 61-84.

Identificación de estructuras arqueológicas usando métodos geofísicos en la región de Oconahua, Jalisco

Fregoso Becerra E.^{1a}, Smith Márquez S. M.², Palafox González A.¹, Alatorre-Zamora M. A.³, Guerrero-Arroyo E. A.¹, Becerra López F. I.¹ Pérez-Corona F. Y.⁴, Dávila Rodríguez I. A.⁵.

¹ Departamento de Matemáticas del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería (CUCEI) de la Universidad de Guadalajara.

² Colegio de Michoacán. Correo: smmarquez@yahoo.com

³ Departamento de Ingeniería Civil del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería (CUCEI) de la Universidad de Guadalajara.

⁴ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Correo:

⁵ Estudiante de la Maestría en Ciencias en Matemáticas del Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingeniería (CUCEI) de la Universidad de Guadalajara.

^a Autor de correspondencia: emilia.fbecerra@academicos.udg.mx,

Palabras clave: Arqueología, Palacio de Ocomo, magnetometría, inversión.

Resumen

El complejo Grillo floreció en el occidente de México del 450 d. C. al 900 d. C. Uno de sus sitios arqueológicos más representativos es el Palacio de Ocomo, que es una estructura compleja, ubicado en la región de Oconahua, Etzatlán, Jalisco, y está siendo objeto de intensas campañas de excavación. Recientemente, se han aplicado metodologías y técnicas Geofísicas para apoyar la labor de exploración en diferentes sitios arqueológicos. En el caso de la Magnetometría, se considera el hecho de que el campo magnético es una propiedad de la Tierra, misma que presenta variaciones (o anomalías) locales, a distintas escalas, dependiendo de la composición de minerales y rocas presentes en una región de estudio. A partir de la relación inherente entre la composición de dichos minerales o rocas, y el campo magnético terrestre, es posible identificar tanto placas tectónicas como estructuras regulares o métricas. En este trabajo se presentan avances en la aplicación de técnicas de Magnetometría, para la identificación de estructuras, específicamente muros, en dos áreas del sector oriental del Palacio de Ocomo. Los resultados obtenidos hasta el momento dan evidencia de la correspondencia entre

estructuras observadas durante excavaciones en el sitio, y las aproximaciones de las técnicas magnetométricas en la misma zona. Esto motiva extender el uso de esta metodología, para apoyar a la labor de exploración arqueológica, a otras zonas del mismo sitio arqueológico, previo a su excavación.

Introducción

La geofísica es un área de la ciencia que estudia el planeta Tierra usando métodos de la física (Sharma, 2004). Existen diversos métodos geofísicos que permiten caracterizar el subsuelo a través de sus propiedades físicas, a partir de las cuales es posible identificar rasgos estructurales, tectónicos, tipos de rocas, entre otras. Las aplicaciones de los métodos geofísicos permiten investigar a profundidades someras, menores de 1 m, hasta estudios en regiones más profundas a nivel de la interfase manto-núcleo. Por ejemplo, es posible aplicar métodos geofísicos para caracterizar un acuífero (hasta 10 m de profundidad) a través de sus propiedades hidrogeofísicas (Doetsch et al., 2010). Asimismo, es posible aplicar la geofísica en estudios más regionales, hasta 15 km de profundidad, donde ocurren eventos tectónicos (Gallardo et al., 2012). En el rango de estudios someros se encuentran los estudios arqueológicos, en los que varias disciplinas geofísicas contribuyen a la reducción de costos en las actividades arqueológicas, cuando es posible identificar más rápidamente las estructuras de interés para los arqueólogos. En este campo, en México, se han realizado diversos estudios geofísicos por ejemplo para determinar la existencia de cuevas y túneles en los alrededores de la Pirámide del Sol, Teotihuacan, México (Chávez et al., 1994); un estudio para identificar utensilios domésticos y áreas calcinadas en Chacalapan, Veracruz, México (Welch, 2005); entre otros.

Cabe destacar que en el occidente de México esta clase de investigaciones es prácticamente desconocida. Por varios años se creyó que no había desarrollos prehispánicos significativos como en otras áreas de Mesoamérica (por ejemplo, Pollard, 1997; Beekman, 2010). En la actualidad, las investigaciones arqueológicas reconocen la existencia de culturas tan importantes como otras vastas zonas en el centro de México (por ejemplo, Weigand, 2001).

En este trabajo se utiliza el método geofísico denominado Magnetometría, un método no invasivo que considera mediciones superficiales del campo magnético local, a partir de las cuales se construyen aproximaciones de la composición de minerales o rocas de la región de estudio. Describiremos más a detalle este

método, así como su aplicación en la caracterización de estructuras arqueológicas del Palacio de Ocomo. Discutiremos el alcance y perspectivas que observamos en el uso de este tipo de metodologías a la luz de nuestros resultados.

Este documento está organizado como sigue: en la parte 2 se describe el sitio arqueológico. En la parte 3 se describen el método geofísico utilizado y las técnicas de procesado de los datos adquiridos. Después, los resultados principales y finalmente las conclusiones.

Palacio de Ocomo

Actualmente, en el poblado de Oconahua, municipio de Etzatlán, Jalisco (Figura 2.1), se está llevando a cabo la restauración e investigación de la zona arqueológica del Palacio de Ocomo ($20^{\circ} 44' N$, $-104^{\circ} 09' W$), el cual es una gran estructura que pudiera tratarse de un conjunto de edificios en un recinto ceremonial (Cach, 2008).

Con base en rasgos culturales como: la tipología cerámica, las tumbas de caja, el diseño y distribución de sitios y el patrón de asentamiento, Galván (1974) definió el complejo Grillo en el valle de Atemajac en la década de los setenta. En sus investigaciones, describió la presencia de cinco sitios rectores: El Tizate, El Grillo, Tesistán, El Tizate-Los Cerritos y Los Padres, los cuales estuvieron organizados en una especie de jerarquía heterárquica y se coordinaron como ciudades dispersas organizadas en barrios con una aglomeración de basamentos piramidales, plataformas rectangulares distribuidas en conjuntos, patios cerrados y espacios abiertos formando plazas (Galván, 2005 en Montejano, 2007).



Figura 2.1 Ubicación de la zona de estudio. El rectángulo rojo delimita la zona que se muestra a la izquierda, donde se localiza Oconahua.

Debido a la presencia de un Talud/tablero en la estructura I del Iztépete, la técnica constructiva en cajones y los sistemas de enterramientos, Galván interpretó el origen del complejo Grillo como una respuesta regional al estado teotihuacano. Otra hipótesis sobre el origen del complejo Grillo se relaciona con una migración desde el Bajío en los valles de Guanajuato (Weigand, 1993; Beekman, 1996; Weigand, García y Cach, 2005); los elementos que respaldan esta idea son: la similitud en los patrones de asentamiento, la presencia de patios hundidos y la cerámica. No obstante, la información es todavía escasa y es necesario continuar con las investigaciones para definir estos vínculos y el génesis de este conjunto de rasgos culturales.

La zona Valles y el complejo Grillo

Dentro del eje Neovolcánico transversal en el altiplano central jalisciense del Occidente de México, se localiza la región de los Valles. Desde hace más de dos mil años, los seres humanos han aprovechado los vastos recursos naturales dentro de este territorio, al transformar y aprovechar las amplias zonas lacustres en zonas agrícolas; los árboles maderables, depósitos de jal, afloramientos de rocas volcánicas en materiales de construcción; y los yacimientos de obsidiana para la fabricación de artefactos y como bienes para comerciar con otras regiones.

La abundancia de recursos acuíferos en la Laguna de Magdalena, estimuló que los habitantes de la región adoptaran un modo de vida lacustre. Aunado a esto, el trabajo de Stuart (2005) describe las técnicas con las cuales los antiguos pobladores construyeron grandes extensiones de campos húmedos en las zonas de mayor captación de agua y ubica su mayor intensificación en la época de apogeo del complejo Grillo (350-650 d. C.). Con esto se incrementó la producción agrícola y permitió el acceso a los bienes necesarios para el sustento de la sociedad.

La obsidiana fue uno de los materiales más importantes en la elaboración de artefactos en todo el territorio mesoamericano y formó parte de la vida e historia cotidiana de los pobladores prehispánicos (Esparza López, 2004, pág. 80). En la cuenca de Magdalena Weigand localizó 42 yacimientos, de los cuales existe evidencia de explotación extensiva en 6: La Joya, Teuchitlán-La Mora, yacimientos del sector Magdalena, San Marcos, Osotero y Llano Grande. En los contextos arqueológicos del Palacio de Ocomo se identificaron diversos artefactos como: navajas, raspadores, puntas de proyectil, punzones, fragmentos de joyería y cuchillos (Smith Márquez, 2012; Mateo, 2019). Este material estratégico, tan

codiciado por las culturas prehispánicas, se utilizó como bien de comercio entre distintas zonas del occidente y fue un factor importante para el florecimiento de las culturas de la región.

La Sierra del Águila, el volcán de Tequila y la zona lacustre, suministraron una cantidad variable de elementos líticos como: pizarra, basalto, granito, toba riolítica y andesita que fueron extraídos y trabajados para ser utilizados como materiales de construcción (Mateo, 2019). También se emplearon arenas y arcillas para los rellenos y los aglutinantes en los edificios. Los hallazgos de las excavaciones permiten interpretar que existían estructuras de materiales perecederos sobre las plataformas de piedra. Debido a que los fragmentos de arcilla localizados fueron expuestos al calor (ya sea de manera intencional o fortuita) fue posible identificar restos de otate y zacate impresos en ellos. La presencia de huellas de poste sobre los empedrados sugiere también que se utilizaron columnas para sostener los techos, que muy posiblemente fueron de encino o pino. La extensa variedad de materiales de construcción permitió la edificación de estructuras monumentales en todos los puntos estratégicos de la región.

En sus recorridos de superficie en la zona Valles, Weigand localizó distintos sitios arqueológicos con el patrón arquitectónico y los tipos cerámicos característicos del complejo Grillo. Los más importantes se encuentran en Tala: El Complejo Jorge Dipp, El Palacio de Tala y la Higuera; en Teuchitlán: Caldera de Los Lobos; en San Juanito: Atitlán; En Magdalena: Xochitepec; y en Oconahua El Palacio de Ocomo (Figura 2.2). Durante la excavación de una plataforma en la colonia la Higuera en el municipio de Tala (López-Mestas Camberos y Montejano, 2003), se detectó una tumba de caja similar a las localizadas en el Valle de Atemajac. Es así como, aunque los sitios arqueológicos presentan particularidades entre ellos, se puede afirmar que comparten las características propias del complejo Grillo.

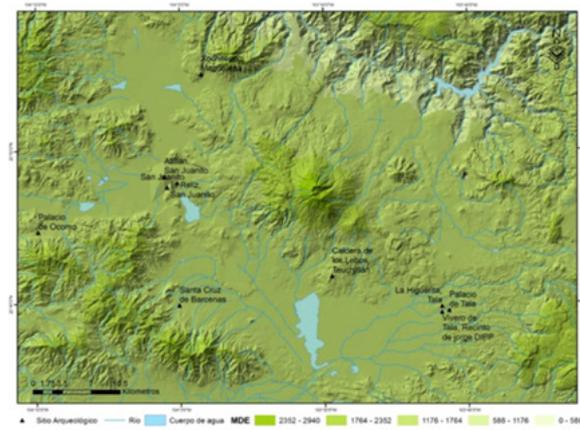


Figura 2.2 Ubicación de sitios arqueológicos pertenecientes al Complejo Grillo.

El sitio que nos compete se encuentra al oeste de la Laguna de Magdalena en el municipio de Etzatlán. Durante trabajos de mapeo, se localizaron diferentes conjuntos arquitectónicos con características particulares que permiten interpretar sus posibles funciones. Aunque se registraron más de 80 estructuras, es difícil delimitar el asentamiento total, ya que se encuentra cubierto por la actual mancha urbana de Oconahua.

Lo que parece ser la estructura principal del asentamiento prehispánico es un patio hundido monumental con 5 estructuras que ocupa un área aproximada de 20,000 m². En los estudios de superficie, Weigand interpretó la planta del edificio como un patio hundido cerrado, similar a los que se encuentran en el Bajío de Guanajuato. Sin embargo, las excavaciones revelaron que, en realidad, el conjunto está formado por 5 edificios que fueron construidos en diferentes épocas.

Para poder identificar y describir esas etapas constructivas, se realizaron excavaciones extensivas. En 3 de estas etapas se observa una modificación de la planta arquitectónica del edificio. Las 2 etapas restantes fueron remodelaciones o ampliaciones. Con base en los datos estratigráficos, se propone una cronología que describe los cambios en el conjunto.

La primera etapa fue construida alrededor del año 450 a. de C. Se trata de una plataforma rectangular que mide 70 m de largo por 30 m de ancho con una orientación E-W y muros en talud (4°) tablero de una altura aproximada de 4.40 m.

Este estilo arquitectónico es similar a los descritos por López y Montejano (2003) en Tala y Corona Nuñez (1955) en el Iztépete en el Valle de Atemajac. Aunque el tablero está casi totalmente destruido, el talud se encuentra en magnífico estado de conservación, las esquinas este y oeste presentan algún deterioro y el muro sur parece haber sido destruido en épocas prehispánicas durante la ampliación en la segunda etapa (Figura 2.3).

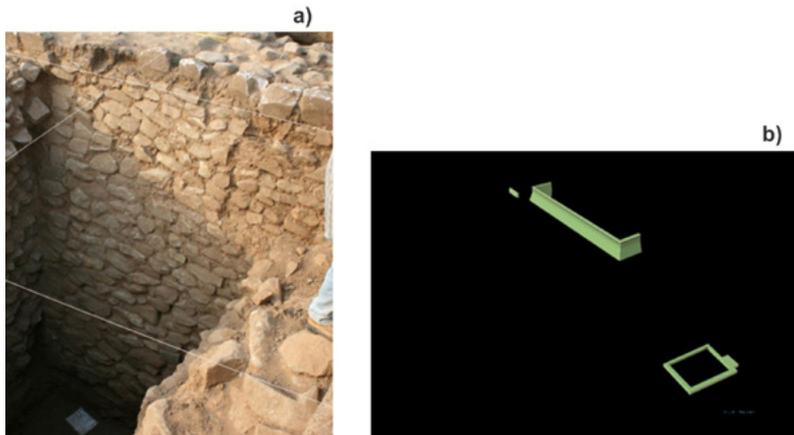


Figura 2.3 (a) Primera etapa constructiva fechada en el 450 d. C.
Figura 2.3 (b) Reconstrucción de la primera etapa.

La segunda etapa es la ampliación más importante en la estructura Norte, durante este proceso, los constructores utilizaron una técnica basada en cajones de piedra sin carear que se rellenaron de arcilla compactada y así cubrieron la primera etapa (Figura 2.4). También se registraron posibles muros de cuartos sobre un apisonado de arcilla.



Figura 2.4 Muros que forman los cajones constructivos, segunda etapa.

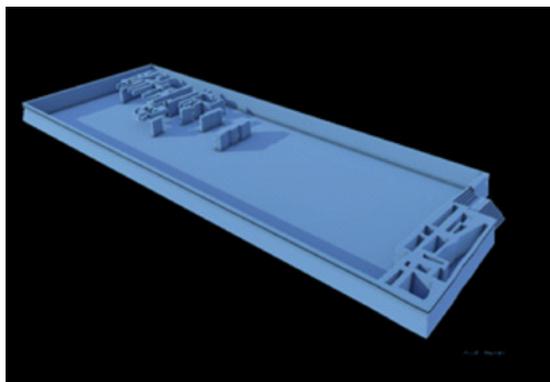


Figura 2.5 Reconstrucción de la segunda etapa.

La tercera y cuarta etapa son ampliaciones menores que se utilizaron para cubrir los daños de los muros perimetrales de la segunda etapa. En este periodo se construyeron los empedrados que cubrieron los cuartos de la etapa anterior. (Figuras 2.5, 2.6 y 2.7)



Figura 2.6 Empedrados de la 3 y 4 etapa.



Figura 2.7 Muros de la etapa 2, 3 y 4.

La quinta y última etapa identificada hasta el momento fue la construcción de las plataformas Este, Sur, Sur este y Oeste del edificio. Debido a que esta zona no ha sido intervenida, no tenemos datos suficientes para establecer su datación y configuración.

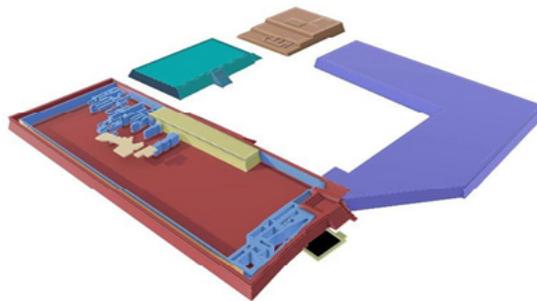


Figura 2.8 Reconstrucción hipotética del patio hundido monumental con las etapas constructivas.

Descripción de los hallazgos en la zona de las muestras.

Las exploraciones que se utilizaron como base para este análisis, se llevaron a cabo en el sector sureste de la plataforma Norte del Patio Hundido monumental (Figura 2.9). Con el objetivo de obtener la mayor cantidad de datos, se optó por realizar excavaciones extensivas que revelaran la totalidad de los contextos. Para el registro horizontal de los restos arquitectónicos y de los materiales muebles, se utilizó una retícula de 2 m² con una numeración consecutiva; para el vertical, se identificaron las capas estratigráficas de origen antrópico que fueron depositadas por los constructores del edificio.

Fue la utilización de estas técnicas lo que permitió identificar características distintas entre los muros de contención para crear los cajones y los muros construidos para definir cuartos. Los aspectos que se consideraron para diferenciarlos fueron: 1) los niveles a los que se encontraban los desplantes, 2) la técnica empleada para la construcción y 3) la relación que tienen estos entre sí y con el resto de la estructura.



Figura 2.9 Acercamiento del área analizada.

Cajones constructivos

El desplante de estos muros se encuentra al mismo nivel que la fachada de la primera etapa y miden aproximadamente 35 m de largo con una altura cercana a los 5 m y se encuentran a una distancia de 6 a 8 m entre ellos. Con esta técnica, los constructores prehispánicos incrementaron el tamaño de la estructura a 130 m al norte y sur y 45 m en los costados E y W. En la zona de interés se localizaron dos muros dobles con muros perpendiculares que forman los cajones constructivos.

La piedra con la que fueron erigidos no está modificada, ya que su propósito es proveer soporte estructural a la plataforma.



Figura 2.10 Muro constructivo 2a. etapa, sobre estructura 1ra etapa.

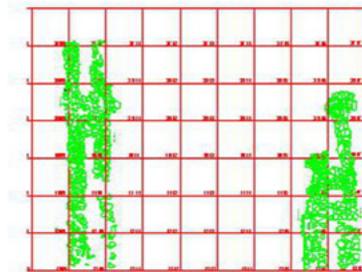


Figura 2.11 Muros constructivos.

Cuartos segunda etapa.

Durante las exploraciones fue posible identificar una capa de contacto de unos 15 cm de espesor con restos cerámicos, líticos y óseos. En este nivel se identificaron varios muros con características distintas a los utilizados en el sistema constructivo. El análisis estratigráfico permite afirmar que están asociados a la segunda etapa constructiva, ya que todos arrancan en la misma capa y en el mismo nivel. Estos muros están edificados con piedra trabajada con el propósito de dar mejor presentación al elemento arquitectónico.



Figura 2.12 Acceso a un cuarto, nivel de arranque de los muros.



Figura 2.13 Restos óseos sobre la capa de arcilla interpretada como apisonado.

En las ampliaciones subsecuentes, el espacio fue modificado a tal grado que es imposible definir con exactitud la dimensión y acomodo de los muros, sin embargo, existe evidencia de una elaborada trama de cuartos y pasillos con restos de apisonados (Figura 2.13).

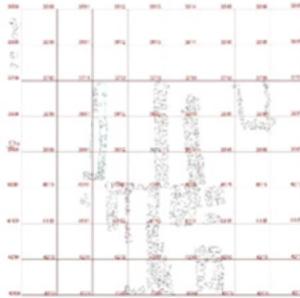


Figura 2.14 Distribución de los cuartos.

Estos son los elementos arquitectónicos detectados en los análisis geofísicos. Será de gran ayuda el tener un mapa de los contextos edificados con piedra para poder planear las excavaciones y prevenir el daño de las áreas a intervenir. El apoyo de métodos geofísicos, como la magnetometría, es sin duda de gran valor para las exploraciones arqueológicas.

Estudio Geofísico

La *Magnetometría* o *Método Magnético* utiliza las propiedades magnéticas de los diferentes tipos de materiales para detectar pequeñas variaciones de la intensidad del campo magnético terrestre, asociadas a distintos valores de magnetización y susceptibilidad magnética. Por ejemplo, considérese un flujo de lava basáltica emplazado en el cauce de un arroyo excavado en materiales detríticos, la lava, debido a su composición mineral, posee un nivel de magnetización superior al de los materiales que la rodean, entonces, al construir un mapa de los valores de magnetización presentes, el flujo de lava puede ser identificado con respecto al material detrítico. Con esta lógica, es posible identificar estructuras hundidas en el subsuelo, como muros, zanjas, fosas, etc., por medio de sus propiedades magnéticas. Una ventaja de usar esta técnica, llamada de *fuerza natural*, es que no es necesario alterar o perturbar el medio para obtener las mediciones, lo cual es importante en el contexto de la preservación de sitios arqueológicos.

Los estudios magnéticos, en términos generales, ofrecen una buena identificación lateral de las estructuras presentes. Sin embargo, la estimación de éstas en

profundidad resulta ambigua, y por tanto, difícil de determinar. Los esfuerzos de nuestros desarrollos están dirigidos en compensar los efectos de esta ambigüedad fundamental, a fin de mejorar la precisión en la aproximación en profundidad en el caso específico de sitios arqueológicos. En este sentido, se considera que estos sitios se componen principalmente de estructuras regulares (muros, columnas, etc.) situadas a profundidades someras.

Por otra parte, los estudios geofísicos típicamente involucran aspectos computacionales significativos. La formulación clásica de los métodos magnéticos conduce a problemas de alta dimensión, donde la obtención de resultados en tiempos alcanzables requiere del uso de estrategias y herramientas computacionales adecuadas. Al mismo tiempo, los paradigmas interdisciplinarios en la resolución de problemas de inversión de datos magnéticos (y geofísicos en general) es un área que ha cobrado atención por parte de la comunidad científica a nivel mundial. Presentamos en esta sección los detalles técnicos relacionados con la adquisición de mediciones magnéticas, así como una formulación alternativa del problema de estimación de estructuras asociado, indicando el tipo de resultados que se pueden obtener, a la luz de nuestros experimentos.

Obtención de mediciones magnéticas

Las mediciones de intensidad de campo magnético se realizaron en dos sitios de la zona arqueológica, identificados como Zona 1 y 2 (Figura 2.15). Estas zonas fueron analizadas, utilizando magnetometría, en diferentes periodos de tiempo. Cabe mencionar que la Zona 1 fue excavada en una campaña de exploración arqueológica previa al estudio magnético. Una vez identificadas las estructuras presentes en la Zona 1, en el estudio arqueológico, el sitio fue nuevamente cubierto con material clástico en su totalidad (arcillas, limos y arenas) para su protección. Esto nos permite en particular, contar con un mecanismo de validación (al menos cualitativa) para nuestros estudios magnéticos, pues los resultados se pueden contrastar con los hallazgos del estudio arqueológico.

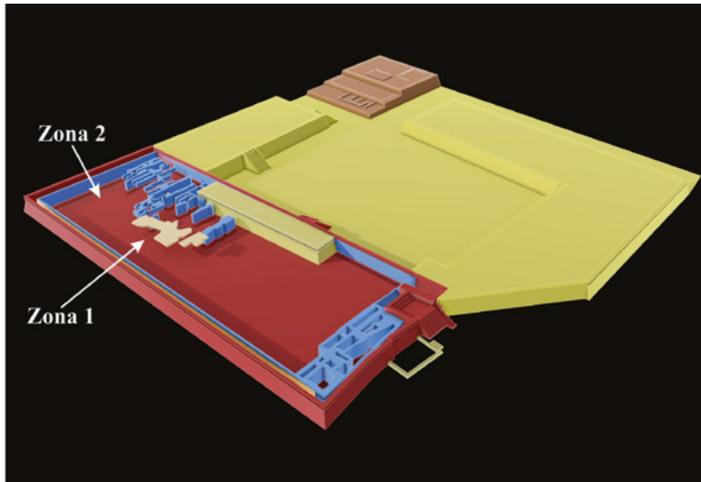


Figura 2.15 Esquema del Palacio de Ocomo donde se muestran las dos zonas de estudio realizadas en diferentes etapas. La Zona 1 muestra las estructuras encontradas en la etapa, exploración arqueológica. La Zona 2 no presenta estructuras debido a que ésta no ha sido excavada.

En la Figura 2.16, se presentan fotografías tomadas durante la excavación de la Zona 1. Se observa que el sitio está formado por muros o paredes construidos con fragmentos de andesita y basalto.



Figura 2.16 Excavación de la Zona 1 en el proyecto arqueológico del Palacio de Ocomo. Esta Zona es estudiada con Magnetometría posterior a que esta fue cubierta con sedimento clástico, del mismo sitio, para su preservación. Se observa que la composición de los muros es andesita y basalto.

Cabe señalar que la Zona 2, señalada en la Figura 2.15, aún no ha sido excavada, por lo que la motivación del método magnético es su aplicación en la identificación de las estructuras de esta Zona previo a su excavación. Más aún, debido a la interpretación que se tiene de la zona y a la cercanía entre los sitios, es de esperar que ambas zonas están compuestas de muros similares con orientación y materiales similares.

Para la medición de intensidad del campo magnético total se utilizaron dos magnetómetros de precesión de protones modelo G-856 marca Geometrics, en ambas zonas. En el caso de la Zona 1, estas mediciones cubren un área de 17 m x 18 m, para la cual se trazaron 18 líneas con dirección Este-Oeste, con separación de 1 m entre cada línea, y se tomaron 19 mediciones con espacio de 1 m entre estas, sobre cada una de las líneas. Lo cual proporciona un total de 342 mediciones. Para la Zona 2, se cubrió un área de 20 m x 24 m, en la que se trazaron 21 líneas con dirección Norte-Sur, con separación de 1 m, sobre las cuales se tomaron 25 mediciones con 1 m de separación entre estas, teniendo un total de 525 mediciones.

Tanto en la Zona 1 como en la Zona 2, durante la adquisición de las mediciones, uno de los instrumentos se instaló como magnetómetro base, con el cual se registró la variación temporal del campo geomagnético local cada minuto, mientras que el segundo magnetómetro se utilizó como equipo móvil para registrar la intensidad del campo geomagnético en cada punto de medición. Esta técnica es útil para corregir la variación temporal que sufre el campo geomagnético local debido a la traslación del sol en la bóveda celeste.

Procesamiento de los datos

Los datos fueron corregidos de acuerdo con el procedimiento descrito en Blakely (1996). El resultado de los datos corregidos para cada zona se puede observar en la Figura 2.17, que esboza el efecto magnético producido principalmente por la influencia del conjunto de estructuras arqueológicas en cada sitio.

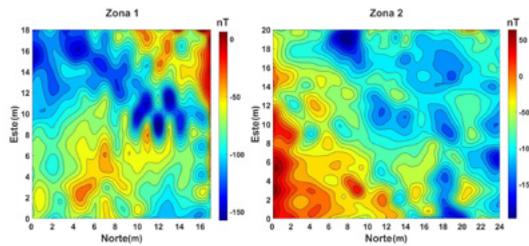


Figura 2.17 Anomalías magnéticas para cada zona de estudio.

Sin embargo, para acentuar los efectos de los cuerpos o estructuras cercanos a la superficie, es necesario aplicar algunos filtros a los datos, como el ángulo de inclinación (tilt angle), primera derivada vertical y derivadas horizontales; estas herramientas matemáticas son descritas por Pérez-Corona et al. (2017). Los resultados del ángulo de ladeo aplicado se muestran en la Figura 2.18. En esta se puede observar el efecto de los rasgos laterales principales de los muros, algunos de ellos están resaltados con líneas blancas punteadas, de manera cualitativa. Cabe señalar, que estas estructuras indicadas en la Figura 2.18, se asemejan bastante a las estructuras encontradas en la excavación (ver panel derecho de la Figura 2.16)

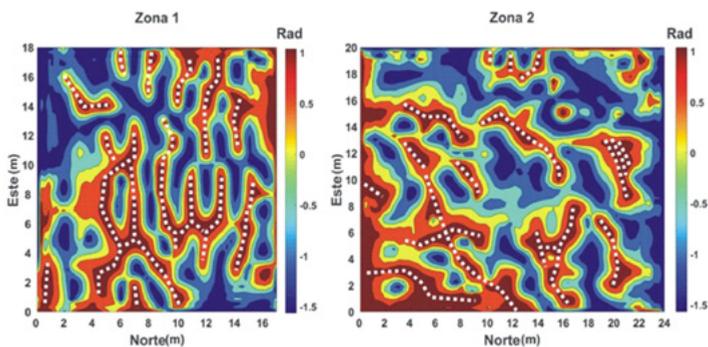


Figura 2.18 Ángulo de inclinación para ambas zonas. Las líneas blancas punteadas muestran la inferencia de una posible distribución en planta de los muros.

Desde este punto de vista, podemos decir que los datos procesados proporcionaron información adecuada de la ubicación lateral de los cuerpos en el subsuelo. Sin embargo, para localizar los muros en profundidad, es necesario aplicar técnicas de inversión de datos geofísicos. De eso se hablará a continuación.

Metodología de inversión

La inversión de datos geofísicos es un área de investigación activa. La gran mayoría de contribuciones en este tema, se dirigen a complementar la información dada por las mediciones, con elementos que contribuyan en la reducción de la ambigüedad existente al identificar estructuras en profundidad. La investigación que se está realizando en el área, en términos de inversión de datos magnéticos, parte de la formulación del problema asociado, como un problema sustituto de baja dimensión, en el que se aprovechan las características específicas de las estructuras en el sitio como parte del proceso. Describiremos el avance que se tiene hasta el momento, así como detalles de nuestra metodología.

El primer aspecto que se consideró relevante en la formulación del problema de inversión magnética, es la dimensión de este. Típicamente, se construye un volumen compuesto por prismas rectangulares, con valor de magnetización constante en todo el prisma, que representa la región de estudio. Mediante el uso de métodos de optimización matemática, junto con estrategias de regularización, se trata de aproximar el mapa tridimensional correspondiente a los niveles de magnetización para cada uno de los prismas. Por tanto, la cantidad de valores a estimar, o bien, la dimensión del problema es el número de prismas del volumen.

Para el caso de sitio arqueológico, se toma en cuenta que se pretende identificar estructuras como muros y columnas, es decir, estructuras que pueden ser representadas con un solo prisma rectangular de tamaño particular. Además, se conoce previamente el valor de magnetización de los muros en la Zona 2, pues se supone que están compuestos del mismo material que los muros de la Zona 1. Por otro lado, se conoce también la profundidad de las estructuras de la Zona 2, pues debe corresponder con la profundidad de la Zona 1. Con estas consideraciones, se diseñó un procedimiento en el que se propone un conjunto de prismas rectangulares, con magnetización de 1 A/m, colocados sobre una superficie base de 5 m de profundidad. Entonces, nuestro problema de inversión magnética se traduce en redimensionar y colocar los prismas rectangulares, en los sitios adecuados de tal forma que reproduzcan la misma anomalía residual que la que se obtuvo con las mediciones de campo geomagnético de la Zona 2.

Para realizar este procedimiento de colocación y redimensionamiento de los prismas rectangulares, se diseñó un procedimiento numérico basado en estrategias evolutivas. En este procedimiento, se construye una población compuesta por

varias configuraciones aleatorias (posición y tamaño) de prismas rectangulares y, después de realizar varias iteraciones aplicando las operaciones propias de las estrategias evolutivas (selección, mutación y cruza), se van obteniendo paulatinamente configuraciones de prismas que reproducen cada vez mejor la anomalía residual. Al final de este procedimiento, se espera que la posición y tamaño de los prismas correspondientes a la configuración cuya magnetización asemeja lo mejor posible a la anomalía residual, coincida con la posición y tamaño de los muros existentes en el sitio.

En la Figura 2.19 se presenta la estimación resultante del procedimiento descrito. Se observa la presencia de estructuras de distintos tamaños, y en particular un muro que se extiende en toda la zona en dirección Norte-Sur. Por otro lado, se tiene una acumulación de estructuras cerca de la zona inferior izquierda y una región sin estructuras al centro. Esta disposición de estructuras, no se contrapone, al menos en un sentido cualitativo, con lo esperado al observar la anomalía residual presentada en el panel derecho de la Figura 2.18.

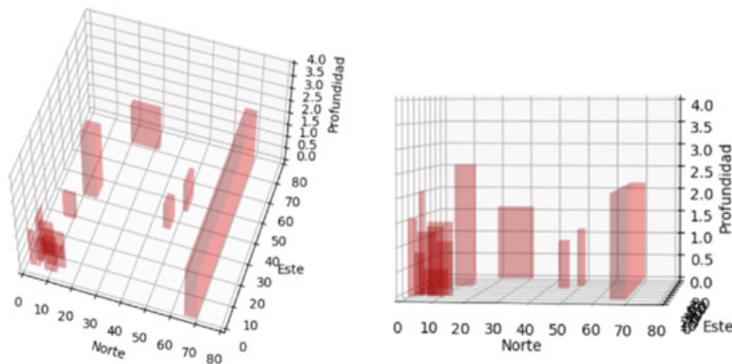


Figura 2.19 Estimación de las estructuras pertenecientes a la Zona 2, resultantes de nuestro procedimiento numérico. Se observa una similitud (cualitativa) con lo esperado al comparar con la anomalía residual mostrada para esta Zona en la Figura 18.

A partir de estos resultados, consideramos que se tiene evidencia suficiente para continuar el desarrollo de este tipo de metodologías en el sitio, así como su extensión a otras zonas arqueológicas en la región.

Conclusiones

Se aplicó la técnica de magnetometría para determinar los rasgos estructurales en dos diferentes sitios de la zona arqueológica donde se ubica el Palacio de Ocomo, en Oconahua, municipio de Etzatlán, Jalisco.

Los procedimientos aplicados a las mediciones magnéticas, así como el modelo de inversión tridimensional propuesto, proporcionaron información geofísica, no existente hasta la fecha, asociada a las estructuras de la zona de estudio. Información que contribuye con el conocimiento de las características arquitectónicas de la zona y, por lo tanto, con el entendimiento de los aspectos culturales y sociales de dicha región.

El estudio arqueológico existente de la Zona 1, proporciona un mecanismo de validación para los procedimientos de inversión magnética desarrollados y por desarrollar en el sitio. Los avances hasta el momento dan evidencia de una correspondencia cualitativa adecuada entre las estructuras existentes y las que se estiman en nuestro procedimiento de inversión.

Dada la importancia de la restauración de la zona arqueológica, se plantea como trabajo a futuro, realizar mediciones magnéticas en otros sitios y detectar los rasgos estructurales con mayor detalle. Asimismo, correlacionar cuantitativamente las estructuras ya conocidas con las inferidas con métodos geofísicos y cuantificar la incertidumbre de la información.

Agradecimientos

Agradecemos el apoyo brindado al cuerpo académico *Matemáticas Aplicadas* con clave UDG-CA-999, a través del proyecto aprobado *Aplicación de técnicas Geofísicas y Métodos Matemáticos para la identificación de Estructuras Arqueológicas*, en el marco de la Convocatoria de *Fortalecimiento de Cuerpos Académicos 2019*.

Referencias

1. Beekman, C. S. (1996). El Complejo Grillo del centro de Jalisco: Una revisión de su cronología y significado. En E. Williams, & P. C. Weigand, *Las cuencas del Occidente de México*, 247-292.
2. Beekman, C. S. (2010). Recent Research in Western Mexican Archaeology.

- Journal of Archaeological Research*, 18, 41-109.
3. Blakely, R. J. (1996). Potential theory in gravity and magnetic applications. Primera edición. Cambridge University Press. 441
 4. Cach, E. (2008). *El palacio de Ocomo, exploración de una estructura: Jalisco, México*. (Reporte técnico). Fundación para el Avance de los Estudios Mesoamericanos, Inc. (FAMSI).
 5. Chávez, R. E., Manzanilla, L., Peralta, N., Tejero, A., Cienfuentes, G. y Barba, L. (1994). Estudio magnético y de resistividad en los alrededores de la Pirámide del Sol, Teotihuacan, México. *Geofísica Internacional*, 33(2), 243-255.
 6. Corona Nuñez, J. (1955). Tumba de *El Arenal, Etzatlán, Jalisco* (Informe 3). Dirección de Monumentos Prehispánicos.
 7. Doetsch, J., Linde, N., Coscia, I., Greenhalgh, S. A. y Green, A. G. (2010). Zonation for 3D aquifer characterization based on joint inversions of multimethod crosshole geophysical data. *Geophysics*, 75(6), G53-G64.
 8. Esparza López, R. (2004). Minería prehispánica de obsidiana en la región Central de Jalisco. En E. Cárdenas, *Tradiciones Arqueológicas*, 79-89
 9. Gallardo, L. A., Fontes, S. L., Meju, M. A., Buonora, M. P. y de Lugao, P. P. (2012). Robust geophysical integration through structure-coupled joint inversion and multispectral fusion of seismic reflection, magnetotelluric, magnetic, and gravity images: Example from Santos Basin, offshore Brazil. *Geophysics*, 77(5), B237-B251.
 10. Galván Villegas, L. J. (1974). Informe preliminar de las exploraciones efectuadas en la zona arqueológica de El Iztépete, Jalisco. Durante el mes de mayo de 1973. *Balance y perspectiva de la Antropología de Mesoamérica y del centro de México, Sociedad Mexicana de Antropología*, 395-410.
 11. López-Mestas Camberos, L., y Montejano, M. (2003). *Investigaciones arqueológicas en La Higuera, Tala*. Revista del Semanario de Historia Mexicana: Arqueología del Centro de Jalisco, 4(1), 11-33.
 12. Mateo, S. (2019). *El proceso de construcción del Palacio de Ocomo: Un acercamiento al trabajo artesanal de materiales constructivos en la fase Grillo (450-900)*. [Tesis Maestría. La Piedad, Michoacán: COLMICH].
 13. Montejano, M. (2007). *El complejo El Grillo en la porción oriental del Valle de Atemajac, Jalisco: Desarrollo cultural en Tonalá, durante el clásico/epiclásico (450-900 d. C.)*, [Tesis de licenciatura. Zapopan, Jalisco: Universidad Autónoma de Guadalajara].
 14. Pérez-Corona, F. Y.; López-Loera, H.; Fregoso-Becerra, E.; Yutis, V.; Martínez-Ruiz, V. J.; Dávila-Harris, P. (2017). Caracterización de lineamientos

- estructurales y sus implicaciones hidrogeológicas en la cuenca de Villa Hidalgo (San Luis Potosí) integrando métodos geofísicos potenciales. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 69 (3), 555-576.
15. Pollard, H. P. (1997). Recent research in west Mexican archaeology. *Journal of Archaeological Research*. 5, 345-384.
 16. Sharma, P. V., (2004). *Environmental and Engineering Geophysics*. (1era edición) Cambridge University Press.
 17. Smith Márquez, S. M. (2012). *Informe técnico al consejo de arqueología temporada 2011-2012*. Oconahua, Jalisco: Colegio de Michoacán.
 18. Stuart, G. (2005). Agricultura de tierra húmeda en el núcleo de la Tradición Teuchitlán. En E. Williams, P. C. Weigand, L. López Mestas, & G. D. C., *Antiguo Occidente de México: Nuevas perspectivas sobre el pasado prehispánico* (págs. 185-210). Zamora, Michoacán: El Colegio de Michoacán.
 19. Weigand, P. C. (1993). *Evolución de una civilización prehispánica: Arqueología de Jalisco, Nayarit y Zacatecas*. El Colegio de Michoacán.
 20. Weigand, P., (2001). West Mexico Classic. E Ember, M. Peregrine, P.N. *Encyclopedia of Prehistory*. 5, Middle America. Springer. 402.
 21. Weigand, P., García, A., & Cach, E. (2005). El Palacio de Ocomo: Tecpan monumental en el occidente de México. *Antropología en Jalisco: una visión actual* (13)
 22. Welch, D. (2005). *El Estudio Geofísico de Chacalapan, Veracruz, México*. (Reporte técnico). Fundación para el Avance de los Estudios Mesoamericanos, Inc. (FAMSI).

La lipasa de papaya y su eficacia como catalizador en diversas reacciones de síntesis de interés industrial

Ivanna Rivera Espinosa I.Y.^{1a}, Sandoval Fabián G.^{2a}

¹Salesas Instituto (Madrid, España)

² Unidad de Biotecnología Industrial de la sede Guadalajara del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ).

^a Autor de correspondencia: gsandoval@ciatej.mx e ivannaiq@gmail.com

Palabras clave: Lipasas, Esterasas, Papaya, Biopolímeros, Alimentos, Fármacos

Resumen

Las lipasas son enzimas cuya función en la naturaleza es la de romper los enlaces éster de los triglicéridos. Además, este tipo de enzimas son conocidas por su amplia gama de aplicaciones en diversas industrias incluyendo la industria farmacéutica, química fina, cosméticos, bioenergía y alimentos.

Una fuente de triacilglicerol lipasas de plantas son los laticifiantes; un grupo de células que contiene látex (un líquido de apariencia lechosa) que encuentra en diferentes plantas como parte de su mecanismo de defensa y cuya composición exacta del látex varía dependiendo de la variedad de la planta. Dentro del látex de papaya esta actividad hidrolítica particularmente interesante por su capacidad de llevar a cabo reacciones de síntesis muy particulares es conocida como la lipasa de *Carica papaya*.

En este trabajo se presentan algunos de los resultados obtenidos tanto para el proceso de purificación parcial de esta actividad como la evaluación de su capacidad en reacciones de síntesis de polímeros de ϵ -caprolactona, producción de lípidos sucedáneos (análogos) de leche materna, y polímeros de ϵ -caprolactona y resolución de la mezcla racémica del éster optílico del ácido 2- bromofenil acético.

Introducción.

Las triacilglicerol lipasas son una clase de enzimas que están encargadas del rompimiento de los enlaces éster de triglicéridos (Casas-Godoy et al., 2018). Este tipo de proteínas se pueden obtener de distintas fuentes incluyendo microorganismos, animales y vegetales.

Una de las lipasas/esterasas más interesantes provenientes de plantas es la actividad lipolítica presente en el látex de *Carica papaya*, conocida en la mayoría de la literatura como la lipasa de *Carica papaya* (Caro et al., 2004; Giordani et al., 1991; Pinyaphong et al., 2011; Rivera et al., 2012).

A la fecha, se ha demostrado que la actividad lipolítica de látex de papaya en realidad está constituida de una mezcla de al menos tres enzimas lipolíticas cuyas características no han sido completamente elucidadas. Una esterasa (Abdelkafi et al., 2009), una lipasa (Dhouib et al., 2011) y una fosfolipasa (Abdelkafi et al., 2012).

Por otro lado, uno de los atractivos principales para el estudio de las propiedades de la actividad lipolítica del látex de *Carica papaya* es su eficiencia en reacciones de síntesis e hidrólisis catalizadas por lipasas ha sido ampliamente demostrada en diversos ramos como la producción de lípidos estructurados, modificación de lípidos y resolución de compuestos quirales de interés farmacéutico.

Por lo que la presente investigación está dedicada al estudio de la capacidad catalítica del látex de *C. papaya* diversas reacciones de síntesis de interés industrial.

Actividad lipolítica en *Carica papaya*

Debido a la complejidad de la estructura polimérica del látex de *Carica papaya* el aislamiento de proteínas sobre todo de la fracción del látex insoluble en agua; como es el caso de la mayoría de la actividad lipolítica, es un proceso complejo. Por lo que se considera que la lipasa de *Carica papaya* como una enzima naturalmente inmovilizada (Abdelkafi et al., 2011; Giordani et al., 1991).

En diversos esfuerzos que se han realizado para aislar la actividad lipolítica de *Carica papaya* el empleo de detergentes como NLS (N- Lauroylsarcosine, detergente aniónico) (Rivera et al., 2012) y CHAPS (detergente zwitteriónico) (Abdelkafi et al., 2009) permiten la extracción de una fracción de la actividad lipolítica detectada

sobre cadenas cortas en hidrólisis de triglicéridos.

La lipasa de *Carica papaya* en modificación de lípidos.

Llamamos lípidos a estructurados a aquellos triglicéridos modificados en su composición de ácidos grasos o su distribución en las moléculas de glicerol, por reacción de interesterificación, ya sea por métodos químicos o enzimáticos.

Los lípidos estructurados de bajo peso molecular se caracterizan por la presencia de residuos de ácidos grasos de cadena corta y ácidos grasos de cadena larga en una misma cadena de triglicéridos con aplicaciones en el campo de nutrición. Un ejemplo de este tipo de lípidos lo podemos encontrar en la interesterificación de triacetina y aceite refinado de soya en la cual se obtuvo un 60% de conversión con el látex de papaya (Mangos et al., 1999).

Otro ejemplo de este tipo de reacciones en la interesterificación de tripalmitina con etil ésteres de diferente largo de cadena (Gandhi & Mukherjee, 2001) en la que los autores reportaron preferencia por cadenas medianas y largas, además de esterificarse de forma preferencial en la posición hidroxilo primaria y hasta 30% de incorporación utilizando látex de papaya como catalizador.

En sistemas libres de solvente la síntesis de alquil ésteres de trilaurina con alcoholes alifáticos secos. Se optimizaron los parámetros de reacción mediante el estudio del efecto de diversos parámetros tales como la actividad de agua, temperatura, cantidad de biocatalizador, tiempo de reacción, radio molar (alcohol/ triglicérido) y tipo de alcohol (Steinke et al., 2000).

Así mismo en la sustitución de diversos aceites de naturales, el aceite de copra fue el más eficaz tanto en la reacción de alcoholisis como en la esterificación de los correspondientes ácidos grasos con n-butanol (Caro et al., 2004).

Con el aceite de pescado obtenido a partir de partes de desecho se ha probado en sistemas libres de solvente y con solvente, con la metanólisis de este aceite se obtuvieron propiedades similares a las obtenidas para el biodiésel obtenidas con el aceite de cocina reciclado (Pinyaphong et al., 2011).

Por otro lado, diversos tratamientos han logrado mejorar la eficacia catalítica del látex de papaya en diversas reacciones como la metanólisis de trioleina donde un

pretratamiento consistente en lavados con isopropanol, mejoran la capacidad catalítica de 10.8 a 63.6% de conversión.

La lipasa de *Carica papaya* en la síntesis de antiinflamatorios no esteroidales.

Los antiinflamatorios no esteroideos (abreviado AINE) son un grupo químicamente heterogéneo de fármacos principalmente antiinflamatorios, analgésicos y antipiréticos, por lo que reducen los síntomas de la inflamación, el dolor y la fiebre respectivamente. Todos ejercen sus efectos por acción de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa.

La lipasa de *Carica papaya* ha sido empleada para la resolución de diversos derivados de naproxeno. En la reacción de hidrólisis en presencia de análogos de naproxeno, se presenta preferencia por el enantiómero (*S*) cuando este se encuentra sustituido por un metilo e hidroxilo (Chen & Tsai, 2005; Ng & Tsai, 2005).

Cuando se emplea 2,2,2-trifluoruro es usado la preferencia es por el éster del enantiómero (*R*) con una enantioselectividad menor comparada con la de otros sus sustituyentes como el cloro en el cual se obtiene un valor de enantioselectividad de 46 (Wang et al., 2007). La sustitución del metil éster de (*R,S*)-2-fluoro naproxeno por el metil éster del (*R,S*)-2-fluoro-2-(4-metoxifenil) propionato así mismo mantiene la preferencia por el enantiómero (*R*).

En la esterificación selectiva en solventes anhidros utilizando la lipasa de *Carica papaya*, los ácidos cloroxipropiónicos y n-propanol, n-butanol, n-hexanol y trimetilsilmetanol como donadores de acilo se encontró enantio-preferencia por el enantiómero (*R*) y un incremento en el % de conversión de acuerdo con el aumento en la longitud de la cadena del alcohol empleado (Cheng & Tsai, 2004).

Así mismo en este grupo de trabajo realizó estudios con una fracción parcialmente purificada (eliminando enzimas solubles en agua) para el análisis del efecto de la posición del sustituyente en la reacción donde el valor más alto de valor enantiomérico se obtuvo en la posición 4, mientras en la posición 3 se obtiene un valor enantiomérico 85% menor (Cheng & Tsai, 2007).

La lipasa de *Carica papaya* en síntesis de biopolímeros

La policaprolactona es un biopolímero con aplicaciones importantes en medicina como un biomaterial implantable. En particular, especialmente en dispositivos implantables de largo plazo, debido a lo lento de su degradación en comparación con otros polímeros biodegradables. Así mismo tiene aplicación como dispositivo para suministro de fármacos y suturas quirúrgicas. A este respecto, el látex de *Carica papaya* presenta capacidades catalíticas comparables a aquellas de algunas lipasas comerciales (Sandoval et al., 2010).

Metodología

El látex de *C. papaya* fue extraído de plantas verdes de acuerdo con la metodología descrita previamente en la literatura (Rivera & Sandoval, 2014).

Se describe una selección de algunas reacciones de interés industrial en la evaluación de su eficacia catalítica bajo condiciones modelo previamente desarrolladas en el laboratorio. Las reacciones seleccionadas fueron: producción de lípidos sucedáneos (análogos) de leche materna (Tecelão et al., 2012), polímeros de ϵ -caprolactona (Sandoval et al., 2010) y resolución de la mezcla racémica del éster octílico del ácido 2- bromofenil acético (Rivera et al., 2013). En las cuales para las dos primeras se empleó un sistema libre de solvente y en la segunda se emplearon diversos solventes.

Además, se desarrolló un proceso de purificación parcial del látex a partir de detergentes y se comparó la capacidad catalítica de dichas fracciones con la del látex crudo (Rivera et al., 2012).

Resultados y discusión

Caracterización de los biocatalizadores obtenidos

Uno de los hallazgos más importantes obtenidos hasta la fecha en cuanto a la extracción directa de la enzima lipolítica o fracciones con actividad lipolítica a partir del látex es la obtención de tres fracciones de acuerdo con la metodología propuesta por (Rivera & Sandoval, 2014); CPLtx (cruda), CPL-p (sin proteasas) y

CPL-e (sin proteasas ni esterases).

En cuanto a sus características, es interesante decir que CPLtx presenta preferencia por triglicéridos de cadena corta en la reacción de hidrólisis de triglicéridos, mientras CPL-p y CPL-e mostraron una mayor actividad en hidrólisis de triglicéridos de cadena mediana y larga respectivamente, lo que es un indicio de la presencia de la más de una proteína en el látex de *Carica papaya*. Así mismo, estos biocatalizadores evaluados presentan una temperatura óptima entre 40°C y 50°C en hidrólisis de triglicéridos y un pH óptimo de 8.5- 9, ensayos sobre triglicéridos de cadena corta y larga respectivamente en ambos casos.

Finalmente, es interesante remarcar que a nivel cinético en una reacción de hidrólisis de aceite de oliva las tres fracciones alcanzan una liberación de ácidos grasos similar (25 a 27 mg). Sin embargo, si es notable el efecto del tratamiento previo en la velocidad inicial de la reacción donde CPL-e presenta una velocidad inicial 1.6 y 1.17 mayor que la obtenida con CPLtx y CPL-p respectivamente y como se puede observar en la Figura 3.1.

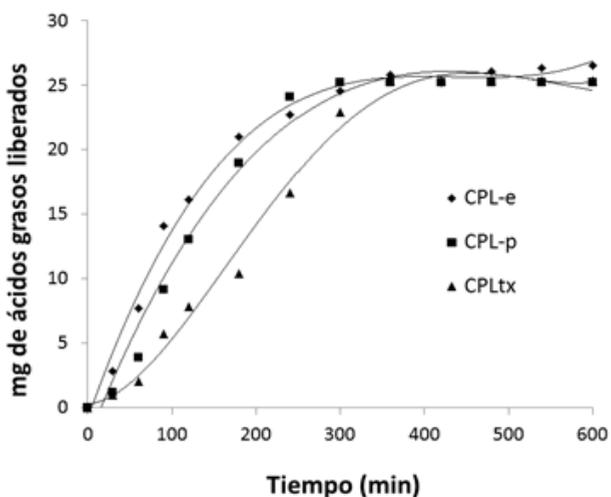


Figura 3.1 Cinética de hidrólisis de aceite de catalizada por diferentes biocatalizadores de papaya. 0.5 g de aceite de oliva, Tampón 2.5 mM Tris HCl, 40°C, 500 rpm. Tomada de Rivera & Sandoval (2014) bajo la licencia CC.

Síntesis de biopolímeros

La policaprolactona (PCL) es un poliéster alifático biodegradable con un bajo punto de fusión de alrededor de 60°C y una temperatura de transición vítrea de alrededor de -60°C. Este polímero tiene principalmente dos aplicaciones: como aditivo en la fabricación de poliuretanos especiales y resinas. No obstante, su aplicación principal es en la industria biomédica como un biomaterial implantable y como un dispositivo para suministro de fármaco, sutura o barrera de adhesión.

En un primer ensayo (Sandoval et al., 2010), se empleó la lipasa de *Carica papaya* lipasa (CPL-p) para evaluar la capacidad de estas proteínas para catalizar la polimerización por apertura de anillo de ϵ -caprolactona. En la Figura 3.2 se muestra la cinética de la reacción y donde se observa una disminución en la conversión a las 24 h y una conversión de alrededor del 44% después de 72 horas de reacción con un peso molecular del polímero de 1100 Da. Dichas conversiones podrían optimizarse para obtener un mayor peso molecular, aunque los oligómeros sirven como sustratos para una posterior post-polimerización química.

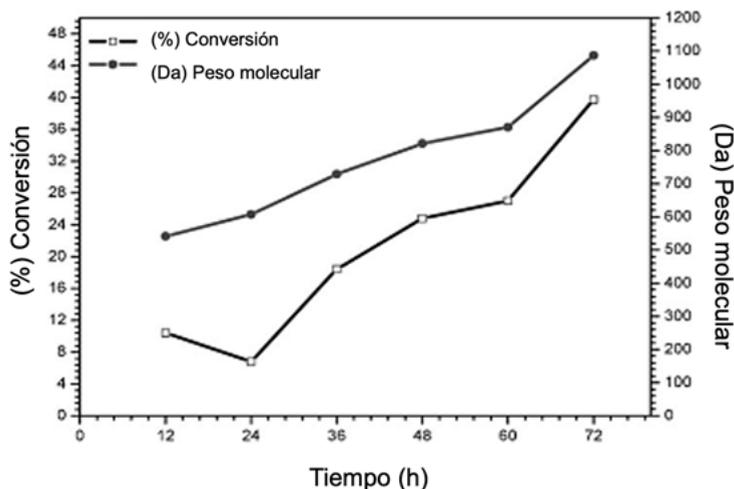


Figura 3.2 Cinética de polimerización por apertura del anillo ϵ -caprolactona catalizada por la lipasa de *C. papaya* CPL-TX en lote. Adaptado de Sandoval et al. (2010) con permiso de John Wiley and Sons.

Obtención de sustitutos de leche materna

Los beneficios de la leche materna como la transmisión de inmunidad pasiva y la disminución del riesgo de infecciones respiratorias, digestivas, de las vías aéreas superiores, otitis y obesidad; son ampliamente conocidos. Por lo que se han elaborado una gran cantidad de estudios para la obtención de distintos lípidos que se asemejen a su composición (Ferreira-Dias et al., 2019).

En este trabajo (Tecelão et al., 2012), se evaluaron diferentes parámetros (temperatura y radio molar) de reacción para la incorporación de ácido oleico en tripalmitina a 60°C, usando una relación molar 2:1 (ácido oleico/tripalmitina) catalizada por la lipasa de *Carica papaya* CPL-tx, donde después de 24 h de reacción, se alcanzó un nivel de incorporación de alrededor de 22% en moles. Así mismo en estudios posteriores se demostró mediante un modelo de superficie de respuesta fue posible alcanzar un % de incorporación mayor al 40% (Figura 3.3).

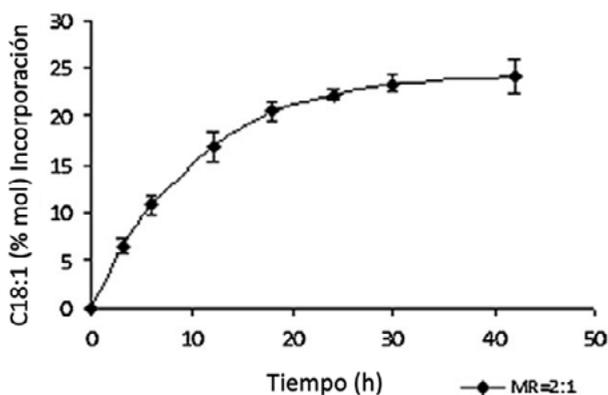


Figura 3.3 Cinética de reacción de la incorporación de ácido oleico en la acidólisis de tripalmitina con ácido oleico catalizada por CPL-tx. Adaptado de Tecelão et al. (2012) con permiso de John Wiley and Sons.

A diferencia de los resultados obtenidos en el caso de condiciones de reacción, en el caso de la reutilización de la enzima los mejores resultados se obtienen en una relación molar 2:1 donde después de una tercera reutilización aún se tiene alrededor de un 75% de actividad residual como se puede observar en la Figura 3.4.

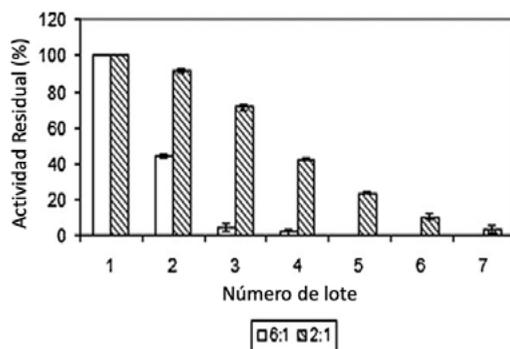


Figura 3.4 Prueba de estabilidad operacional en de reutilización de lotes. Actividad residual después de 23 horas de reutilización de lote en la acidólisis de tripalmitina con ácido oleico, a relación molar 2:1 y 6:1. Adaptado de Tecelão et al. (2012) con permiso de John Wiley and Sons.

Antiinflamatorios no esteroideos

La enantio-resolución de la mezcla racémica del éster de octílico del ácido 2-bromofenil acético fue estudiada como una reacción modelo (Rivera et al., 2013), en medio bifásico (agua: decano 1: 1), 25 °C y pH 8.5 para evaluar la capacidad enantioselectiva de la lipasa de *Carica papaya*. Además, este compuesto es interesante como precursor de antiinflamatorios no esteroideos.

Respecto a ello, las tres fracciones del látex de papaya enriquecidas en actividad lipolítica fueron altamente selectivas con preferencia por el enantiómero S, con un coeficiente de enantioselectividad mayor a 200 y un exceso enantiomérico del producto de 95%. A pH 8.5, CPLtx presento una velocidad ($2.36 \pm 0.10 \mu\text{mol}\cdot\text{h}^{-1}\cdot\text{g enzima}^{-1}$) para el enantiómero (S) preferido y una enantioselectividad muy alta (> 200), entre tanto las fracciones CPL-p o CPL-e la velocidad inicial fue 2.1 y 2.4 veces más rápida con un coeficiente de enantioselectividad igualmente mayor a 200.

Finalmente, como se muestra en la Figura 3.5 se evaluó el efecto de la temperatura en la reacción; para ello fueron empleadas solo las fracciones CPL-tx y CPL-p tomando en cuenta los resultados anteriores. Como era de esperarse la velocidad de la reacción fue menor a una temperatura de 4 °C y parece no tener efecto sobre la posible presencia de proteasas, alcanzando finalmente prácticamente el consumo total del sustrato. Así mismo cuando se analizó a 25 °C, aproximadamente a 48 h de reacción con CPL-p (47.8% de conversión total), se puede recuperar el 98,0% del enantiómero (R) con una pureza del 93.9% y el 93.6% con una pureza del 97.9% para el enantiómero (S).

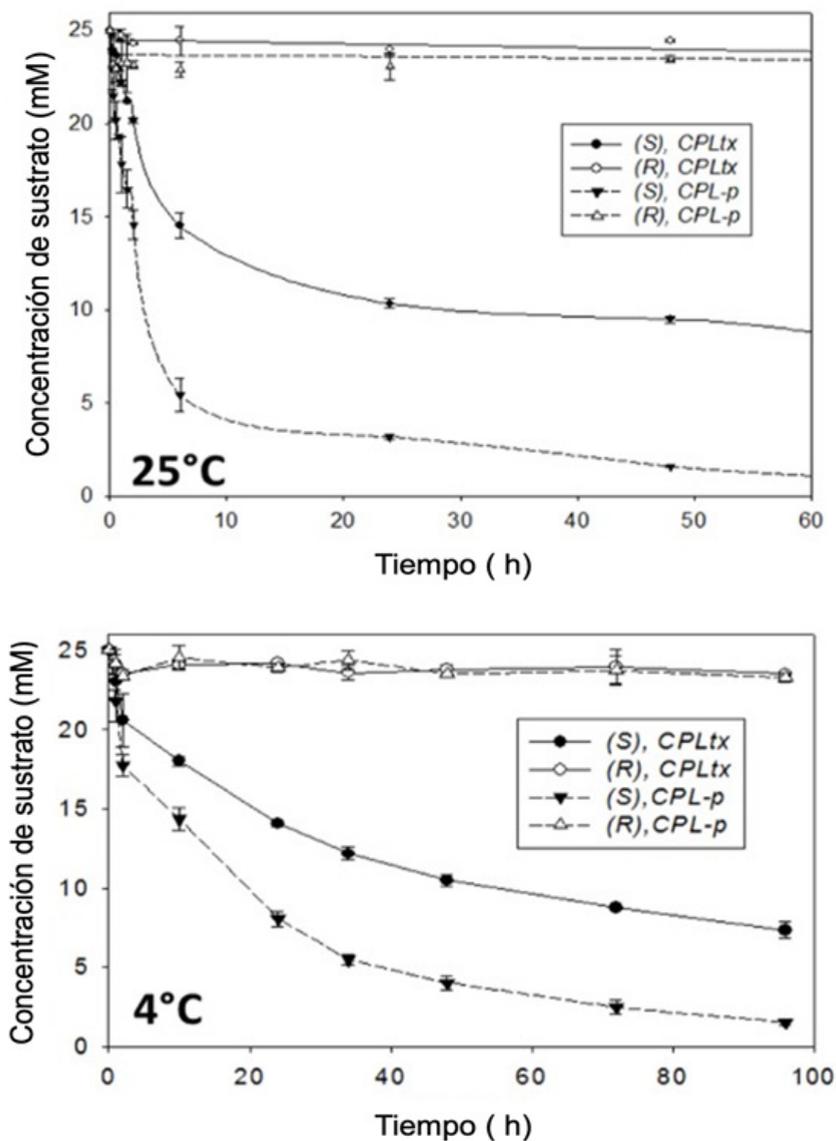


Figura 3.5 Cinética de reacción de la enantio-resolución del éster octílico del ácido (R,S)-2-bromo-fenil catalizada por CPltx and CPl-p. Adaptado de Rivera et al. (2013) con permiso de Elsevier.

Conclusiones y perspectivas

La obtención de biocatalizadores con actividad lipolítica conseguidos a partir del látex de papaya, con distintas propiedades y características fisicoquímicas ayudó no solo en el estudio de la complejidad de las distintas proteínas con la actividad lipasa presentes en el látex de *Carica papaya*, sino para selección del mejor catalizador de acuerdo con las reacciones de interés.

Además, se tiene una colección de reacciones modelo que permiten la evaluación de la eficacia catalítica de los diversos biocatalizadores de manera rápida y eficiente, así como una metodología eficaz para la purificación parcial del látex.

Así mismo, en las reacciones seleccionadas los biocatalizadores evaluados presentan una eficiencia comparable o incluso superior que la de lipasas microbianas disponibles comercialmente en el medio reaccional seleccionado en cada caso.

Dada la dificultad de separación de la actividad lipolítica del látex y que se tiene disponible el genoma de *Carica papaya*. Se han podido explorar también, algunas de sus enzimas lipolíticas expresadas en un huésped adecuado (Gutiérrez-Ortega et al., 2017; Rivera et al., 2017), que podrán reevaluarse en las reacciones aquí descritas o en otras de interés industrial.

Referencias

1. Abdelkafi, S., Abousalham, A., Fendri, I., Ogata, H., Barouh, N., Fouquet, B., . . . Carrière, F. (2012). Identification of a new phospholipase D in *Carica papaya* latex. *Gene*, 499(2), 243-249. doi: <https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.03.033>
2. Abdelkafi, S., Barouh, N., Fouquet, B., Fendri, I., Pina, M., Scheirlinckx, F., . . . Carrière, F. (2011). *Carica papaya* Lipase: A Naturally Immobilized Enzyme with Interesting Biochemical Properties. *Plant Foods for Human Nutrition*, 66(1), 34-40. doi:10.1007/s11130-010-0206-0
3. Abdelkafi, S., Ogata, H., Barouh, N., Fouquet, B., Lebrun, R., Pina, M., . . . Carrière, F. (2009). Identification and biochemical characterization of a GDSL-motif carboxylester hydrolase from *Carica papaya* latex. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1791(11), 1048-

1056. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2009.06.002>
4. Caro, Y., Turon, F., Villeneuve, P., Pina, M., & Graille, J. (2004). Enzymatic synthesis of medium-chain triacylglycerols by alcoholysis and interesterification of copra oil using a crude papain lipase preparation. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(8), 503-512. doi:<https://doi.org/10.1002/ejlt.200400955>
 5. Casas-Godoy, L., Gasteazoro, F., Duquesne, S., Bordes, F., Marty, A., & Sandoval, G. (2018). Lipases: An Overview. In G. Sandoval (Ed.), *Lipases and Phospholipases. Methods in Molecular Biology* (2nd ed., Vol. 1835). New York, NY: Humana Press.
 6. Chen, C.-C., & Tsai, S.-W. (2005). *Carica papaya* lipase: a novel biocatalyst for the enantioselective hydrolysis of (R,S)-naproxen 2,2,2-trifluoroethyl ester. *Enzyme and Microbial Technology*, 36(1), 127-132. doi: <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.07.004>
 7. Cheng, Y.-C., & Tsai, S.-W. (2004). Enantioselective esterification of (RS)-2-(4-chlorophenoxy) propionic acid via *Carica papaya* lipase in organic solvents. *Tetrahedron: Asymmetry*, 15(18), 2917-2920. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2004.05.036>
 8. Cheng, Y.-C., & Tsai, S.-W. (2007). *Carica papaya* lipase: An effective biocatalyst for esterification resolution of (RS)-2-(chlorophenoxy) propionic acid. *Biochemical Engineering Journal*, 35(3), 318-324. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.01.030>
 9. Dhoub, R., Laroche-Traineau, J., Shaha, R., Lapaillerie, D., Solier, E., Rualès, J., . . . Arondel, V. (2011). Identification of a putative triacylglycerol lipase from papaya latex by functional proteomics. *The FEBS Journal*, 278(1), 97-110. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2010.07936.x>
 10. Ferreira-Dias, S., Osório, N. M., Rodrigues, J., & Tecelão, C. (2019). Structured Lipids for Foods. In L. Melton, F. Shahidi, & P. Varelis (Eds.), *Encyclopedia of Food Chemistry* (pp. 357-369). Oxford: Academic Press.
 11. Gandhi, N. N., & Mukherjee, K. D. (2001). Synthesis of designer lipids using papaya (*Carica papaya*) latex lipase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 11(4), 271-277. doi: [https://doi.org/10.1016/S1381-1177\(00\)00045-X](https://doi.org/10.1016/S1381-1177(00)00045-X)
 12. Giordani, R., Moulin, A., & Verger, R. (1991). Tributyrilglycerol hydrolase activity in *Carica papaya* and other latices. *Phytochemistry*, 30(4), 1069-1072. doi:[https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)95174-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)95174-4)
 13. Gutiérrez-Ortega, A., Rivera, I., Cruz-Franco, S., Gutiérrez-Mora, A., Alpuche-Solís, Á. G., Sánchez-Hernández, C., . . . Sandoval, G. (2017).

- Identification, cloning and expression of a new GDSL lipase from *Carica papaya*. *Process Biochemistry*, 55, 70-76. doi:<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.01.027>
14. Mangos, T. J., Jones, K. C., & Foglia, T. A. (1999). Lipase-catalyzed synthesis of structured low-calorie triacylglycerols. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(10), 1127-1132. doi:<https://doi.org/10.1007/s11746-999-0084-5>
 15. Ng, I.-S., & Tsai, S.-W. (2005). Hydrolytic resolution of (R,S)-naproxen 2,2,2-trifluoroethyl thioester by *Carica papaya* lipase in water-saturated organic solvents. *Biotechnology and Bioengineering*, 89(1), 88-95. doi:<https://doi.org/10.1002/bit.20314>
 16. Pinyaphong, P., Sriburi, P., & Phutrakul, S. (2011). Biodiesel Fuel Production by Methanolysis of Fish Oil Derived from the Discarded Parts of Fish Catalyzed by *Carica papaya* Lipase. *World Academy of Science, Engineering and Technology, Open Science Index 52, International Journal of Chemical and Molecular*, 5(4), 322-328. doi:<https://doi.org/10.5281/zenodo.1071468>
 17. Rivera, I., Mateos-Díaz, J. C., & Sandoval, G. (2012). Plant Lipases: Partial Purification of *Carica papaya* Lipase. In G. Sandoval (Ed.), *Lipases and Phospholipases. Methods in Molecular Biology* (1st ed., Vol. 861). New York, NY: Humana Press.
 18. Rivera, I., Mateos, J. C., Marty, A., Sandoval, G., & Duquesne, S. (2013). Lipase from *Carica papaya* latex presents high enantioselectivity toward the resolution of prodrug (R,S)-2-bromophenylacetic acid octyl ester. *Tetrahedron Letters*, 54(40), 5523-5526. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.07.151>
 19. Rivera, I., Robles, M., Mateos-Díaz, J. C., Gutierrez-Ortega, A., & Sandoval, G. (2017). Functional expression, extracellular production, purification, structure modeling and biochemical characterization of *Carica papaya* lipase 1. *Process Biochemistry*, 56, 109-116. doi: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.02.009>
 20. Rivera, I., & Sandoval, G. (2014). Caracterización de diversas fracciones del látex *Carica papaya* como biocatalizadores en la hidrólisis de triglicérido. *Grasas Aceites*, 65(1), e003. doi:<http://dx.doi.org/10.3989/gya.049313>
 21. Sandoval, G., Rivera, I., Barrera-Rivera, K. A., & Martínez-Richa, A. (2010). Biopolymer Synthesis Catalyzed by Tailored Lipases. *Macromolecular Symposia*, 289(1), 135-139. doi:<https://doi.org/10.1002/masy.200900016>
 22. Steinke, G., Kirchhoff, R., & Mukherjee, K. D. (2000). Lipase-catalyzed alcoholysis of crambe oil and camelina oil for the preparation of long-chain esters. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(4), 361-366.

doi:10.1007/s11746-000-0059-8

23. Tecelão, C., Rivera, I., Sandoval, G., & Ferreira-Dias, S. (2012). *Carica papaya* latex: A low-cost biocatalyst for human milk fat substitutes production. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(3), 266-276. doi:<https://doi.org/10.1002/ejlt.201100226>
24. Wang, P.-Y., Chen, T.-L., & Tsai, S.-W. (2007). Enzymatic hydrolytic resolution of (R,S)- α -chlorophenyl acetates in biphasic media. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 48(1), 16-22. doi:<https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2007.05.008>

Herramientas Bioinformáticas para el Análisis de Mutaciones en Secuencias de ADN de *Staphylococcus aureus*

Hernández Amador J. F.¹, Moran Marroquín G. A.², Álvarez-Maya I.^{1a}

¹Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica de la sede Guadalajara del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ)

²Universidad UNE, Juan Gil Preciado No. 3897. Colonia Hogares de Nuevo México, Zapopan, Jalisco, México.

^aAutor de correspondencia: ikuri.alvarez@gmail.com.

Palabras claves: *Staphylococcus aureus*, bioinformática, mutaciones

Resumen

Introducción. La bioinformática es una herramienta de la ciencia que responde a la necesidad de interpretar la gran cantidad de datos obtenidos tras las secuenciaciones y se emplea fundamentalmente en la biología molecular y ciencias afines. Tanto los programas *open source*, como los de licencia que se han utilizado para el análisis de mutaciones en secuencias de ADN, lo cual permite a los investigadores el desenvolverse dentro del área y emplear estrategias bioinformáticas flexibles y adaptables a sus necesidades. **Entorno Metodológico.** Utilizando equipos de cómputo portátiles migrados a un sistema operativo Linux, se descargaron e instalaron las herramientas bioinformáticas *open source* para el análisis de las secuencias. Después del análisis de calidad, se realizó un filtrado de calidad de las mismas secuencias y un ensamble completo obteniendo un archivo con extensión FASTA, el cual se utilizó para la alineación de secuencias con la secuencia de referencia obtenida del repositorio de nucleótidos del NCBI. El llamado de variantes da como salida un archivo VCF el cual es fundamental para resumir la búsqueda de mutaciones en la secuencia completa. **Resultado y Discusión.** El resultado fue un análisis completo de una secuencia genómica utilizando herramientas bioinformáticas *open source* para la búsqueda de mutaciones en secuencias completas, ya conocidas, de ADN, rescatando mutación significativa para *S. aureus*. **Conclusión.** Las herramientas bioinformáticas bajo licencia facilitan el análisis y manejo de las secuencias de ADN con las que se trabaja, sin embargo, las herramientas *open source* para el análisis de mutaciones en secuencias de ADN realizan un trabajo eficaz si se utilizan y analiza el trabajo adecuadamente pues,

las mutaciones no siempre se presentan en sitios significativos para resistencia bacteriana o beneficio de la cepa.

Introducción

La bioinformática es una herramienta de la ciencia que responde a la necesidad de interpretar la gran cantidad de datos obtenidos tras la secuenciación y se emplea fundamentalmente en la biología molecular y ciencias afines, sin embargo, cualquier ciencia de interés puede hacer uso de ella. En bioinformática se tienen bases de datos, que son colecciones de secuencias disponibles para consulta en las que, en algunas de ellas, puede encontrarse material de consulta literario (Bautista, 2010). En la actualidad, existen herramientas bioinformáticas que hacen consorcio con las bases de datos en las que, el analista puede trabajar con la cepa problema que desee analizar y consultar similitudes con organismos previamente publicados en las bases de datos (Aguilar-Bultet, 2015). En cuanto a la facilidad y el manejo de las herramientas bioinformáticas, los programas bajo licencia crean una experiencia innovadora para el analista, pues los paneles de herramientas dentro de los mismos hacen que se pueda manejar la secuencia genómica sin salir del mismo, sin embargo, las herramientas *open source* encontradas en sitios web propios de los desarrolladores de uso online o descargados y utilizados directamente por la terminal del equipo de cómputo, pueden generar resultados factibles para el estudio de los organismos y sus mutaciones (Prendes, 2017).

Con el impacto actual en cepas farmacorresistentes y nuevas mutaciones en las cepas, es necesario un estudio penetrante en cuanto a las estructuras génicas de los microorganismos patológicos para un tratamiento eficaz, tal como, en 2018, Orozco-Andrade y cols. presentaron un estudio midiendo la farmacorresistencia y encontrando sensibilidad en alguna línea de medicamentos en su tratamiento. Los resultados del flujo de trabajo bioinformático para la búsqueda de mutaciones en secuencias de ADN se complementan con la interpretación de la mutación presente en la cepa pues, dependiente de la codificación y el sitio de unión de la misma, será o no beneficioso para la cepa.

En este trabajo nos enfocamos en utilizar una metodología que permita la identificación de mutaciones en secuencias completas de ADN pudiendo contribuir a la detección de cepas resistentes o multirresistentes a medicamentos de primera o segunda línea en sus tratamientos, así como la detección de cepas mutadas.

Contexto Teórico y Contextual

La bioinformática es una herramienta de la ciencia que responde a la necesidad de interpretar la gran cantidad de datos obtenidos tras las secuenciaciones (Martinez Bernetche, 2007) y puede definirse como el uso de herramientas informáticas para determinar una serie de datos como el almacenamiento, la interpretación, organización y análisis de datos biológicos; DNA, RNA, proteínas, etc. (Coronado Zamora, 2013).

Si bien, las herramientas bioinformáticas no son precisamente las mismas utilizadas en un laboratorio molecular convencional puesto que, en bioinformática, una herramienta se refiere a algoritmos específicos para catalogar, descubrir funcionalidades de estructuras y buscar relaciones entre ellas (Martinez Bernetche, 2007). Así mismo, un algoritmo en informática es una secuencia de instrucciones por el cual se realizan una serie de procesos, pero no son precisamente un lenguaje de programación dado que un algoritmo podría ejecutarse en diversos lenguajes de programación. En la figura 1 se muestra un diagrama de flujo de un algoritmo sencillo que genera una visión más clara de cómo debería funcionar un algoritmo ya que estos constan de:

- Datos de entrada para operar el algoritmo (input)
 - El proceso que el algoritmo codificara con el input recibido
 - Los datos de salida que el algoritmo devolverá al finalizar el proceso (output)
- (Raffino, 2019)

En programación, se crean diagramas de flujo que dan una visión clara del funcionamiento del programa antes de diseñarlo, con todas las variantes y opciones que se puedan generar (Sweigart, 2015), sin salir del contexto a la estructura base del algoritmo en cuestión.

Un algoritmo podría confundirse con un programa de computadora puesto que ambos pueden funcionar de manera similar, pero un programa de computadora es un conjunto de instrucciones que la computadora puede entender (Sweigart, 2015) y un algoritmo es esa serie de instrucciones, traducidas a un lenguaje de programación que darán vida a un programa.

Un análisis bioinformático para la búsqueda de mutaciones en secuencias de ADN consiste en el uso de herramientas y programas específicos, escritos en diferentes lenguajes de programación y con diversos algoritmos, que editarán, analizarán y

evaluarán, la secuencia de nucleótidos. Al conjunto de estos se les conoce como estrategias bioinformáticas (Garrigues, 2017).

Las estrategias bioinformáticas no tienen una estructura estándar puesto que la cantidad de herramientas para análisis, *open source* o bajo licencia, es alta, aunque la mayoría de las estrategias bioinformáticas cuentan con los siguientes pasos:

- Conversión de secuencias de ADN a datos
- Calidad de las secuencias
- Filtrado de datos
- Mapeo de las lecturas de ADN
- Llamado de variantes (Mahkovec, 2018)

Calidad de las secuencias

Las NSG generan millones de lecturas en una sola corrida por ello, es importante analizar estas secuencias y verificar la pureza de los datos, aun cuando algunos de ellos generan un reporte de calidad como parte de su análisis, sin embargo, este solo reporta problemas con el secuenciador mismo. (Institute, s.f.)

Los electroferogramas de los secuenciadores automatizados muestran la calidad de las bases llamadas de forma gráfica con relación a la luminosidad de los fluoroforos generados por los didesoxirribonucleotidos marcados, obteniendo una gráfica de colores como se muestra en la figura 7, en la que, una altura mayor en el pico de una base genera una mejor calidad que un pico disminuido, así mismo, la anchura de estos podría ser por la lectura aglomerada de dos bases similares. (Cortez Romero, 2019)

Los secuenciadores Illumina generan archivos en formato fastq (Illumina, 2019) los cuales miden su viabilidad usando una serie de valores llamados Phred score o valores de calidad (Q score) que son representados con caracteres ASCII en donde la calidad de cada base es representada con un carácter único. Los viejos secuenciadores Illumina utilizan los valores Phred 64, sin embargo, los NSG han sido universalmente adaptados a un Phred 33.

Planteamiento del Problema

El incremento de las patologías, los mecanismos cambiantes de infección de los

distintos organismos patógenos causales de las distintas patologías que ahogan a la humanidad, así como la resistencia a los antibióticos en el tratamiento de los mismos, hacen que la recurrencia a las nuevas tecnologías de secuenciación y el apoyo en las ciencias informáticas, sean una factible opción de consulta.

En 2016, Ares y cols. Presentan un trabajo de aporte a la resistencia bacteriana en el cual se muestra la importancia en la identificación de polimorfismos de nucleótidos simples (SNP), de igual forma, en 2018, Orozco-Andrade y cols. presentaron un estudio donde se mide la farmacorresistencia de Tuberculosis proveniente de solicitantes migrantes, en el cual se encontró una mayor prevalencia de monorresistencia pudiendo ser tratados con un medicamento eficaz.

La detección temprana y certera de la cepa contaminante, así como la sensibilidad a mutaciones que conllevan a una resistencia a los medicamentos en el tratamiento, crean un campo de estudio amplio donde la bioinformática aporta resultados valiosos al área de la medicina moderna y a las ciencias de interés.

Hipótesis

Las mutaciones presentes en el genoma completo de un organismo pueden ser identificadas utilizando una serie de herramientas bioinformáticas disponibles en la web, las cuales permiten identificar cambios en la estructura genómica del organismo.

Objetivo

El Objetivo general del presente trabajo es analizar el genoma completo de un organismo utilizando diferentes herramientas bioinformáticas para conocer las mutaciones presentes en el genoma.

Entorno Metodológico

Las secuencias de ADN se obtuvieron a partir de un secuenciador MiSeq Illumina por parte del grupo de trabajo de la Dra. Ikuri Álvarez, en formato Paired-end, con extensión de documento FASTQ.

El análisis bioinformático se realizó en dos equipos distintos de cómputo portátiles

con sistemas operativos migrados a Linux en su versión Ubuntu 18.4 debido a que las herramientas bioinformáticas, en su mayoría, son compatibles en sistemas operativos Linux y en menor frecuencia, en sistemas Windows, mismas que fueron descargadas e instaladas por línea de comando desde los ordenadores.

Análisis de calidad Phred score

Utilizando el sistema de calidad Phred 33, se analizó cada secuencia con el fin de conocer las condiciones de calidad de estas al salir del secuenciador. Esto es de gran utilidad ya que se genera sin la utilización de algún programa o algoritmo bioinformático puesto que las secuencias en formato FASTQ proveen un código ASCII para cada base llamada, al traducirlo podemos obtener la calidad de la misma de forma casi inmediata.

Análisis de calidad FASTQC

Un análisis complementario al Phred 33 para conocer las condiciones de calidad, a detalle, de las secuencias, se realizó por el programa FASTQC, el cual permite un reconocimiento de la secuencia, así como sus estadísticas por base llamada durante la secuenciación (Institute B).

Filtrado de variantes

Utilizando la herramienta de línea de comando, trimmomatic, se generó un filtrado de calidad mayor a $Q = 20$ ya que, una calidad de base $Q = 20$ proporciona una P de error de 1-100 bases llamadas, con una precisión del 99%, evitando así una pérdida excesiva de la secuencia y recuperando un mínimo del 80% de la misma.

Seguido al filtrado de calidad, las secuencias resultantes por Trimmomatic, repiten el análisis por FASTQC para su reanálisis de calidad.

Ensamble

Las secuencias resultantes del filtrado de calidad se ensamblaron con el algoritmo SPAdes, utilizando únicamente las secuencias Forward y Reverse paired, respectivamente para cada secuencia pura obtenida. Así mismo, el algoritmo SPAdes trabajó con cadenas de 16 bases y una memoria no mayor a 250Gb. Obteniendo una única secuencia completa en formato FASTA (Miller, 2010).

Alineación de secuencias

A cada secuencia se le realizó un BLAST para la búsqueda de similitud de nucleótidos en la base de datos estándar del NCBI donde se introdujo la secuencia ensamblada en formato FASTA, se seleccionó el programa de alta similitud de secuencia y se corrió el análisis (Mahkovec, 2018).

Con la información recabada del BLAST se extrajo la secuencia de referencia con mayor similitud a la secuencia problema y utilizando la herramienta QUASt en línea de comando, se realizó una alineación de secuencias para obtener información que precise la similitud de las mismas (Baxevanis, 2005).

Llamado de variantes

Se realizó un alineamiento entre la secuencia de referencia y la secuencia problema con la herramienta de línea de comando BWA, la cual conjunta el alineamiento en un archivo SAM. Utilizando la herramienta de línea de comando Samtools en conjunto al archivo SAM y la secuencia de referencia, se realiza un realineamiento del archivo SAM junto a la secuencia de referencia y se conjunta el alineamiento en un archivo formato BAM.

Utilizando la herramienta de línea de comando Samtools y la herramienta integrada en la misma, bcftools, se realizó un llamado de variantes de acuerdo con la secuencia de referencia con los comandos que se muestran en la tabla tres. La visualización de variantes se llevó a cabo con la herramienta de línea de comando Samtools Tview, una sub-herramienta de Samtools.

Resultados

Los secuenciadores de nueva generación (NGS) generan secuencias de buena calidad, sin embargo, algunas veces al inicio de la secuencia, entre la longitud de la misma valla en aumento, la calidad decrece desfavorablemente. Esto se percibe notoriamente en secuencias Paired-end, donde se obtienen dos secuencias; Forward y Reverse, siendo esta última, la que algunas veces contiene bases de menor calidad (Maxam, 1977).

Al utilizar un canal bioinformático en busca de mutaciones genómicas en secuencias de ADN *S. aureus*, se obtuvieron los siguientes resultados.

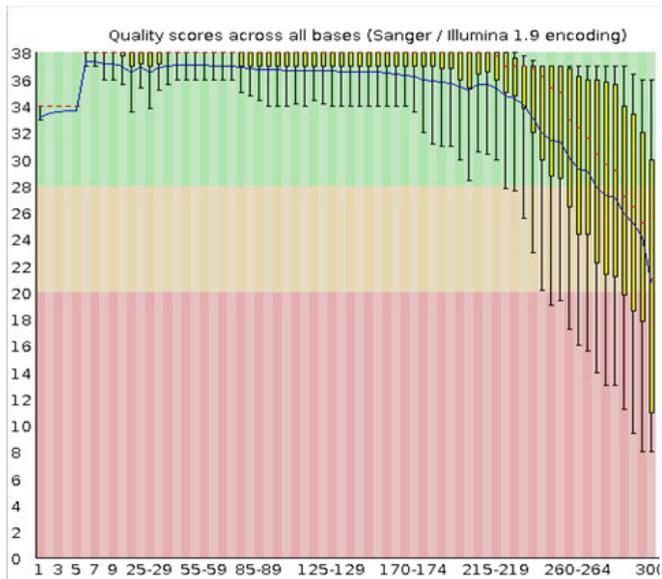


Figura 4.3 Calidad de la secuencia Forward de *S. aureus* por base, dadas por FASTQC

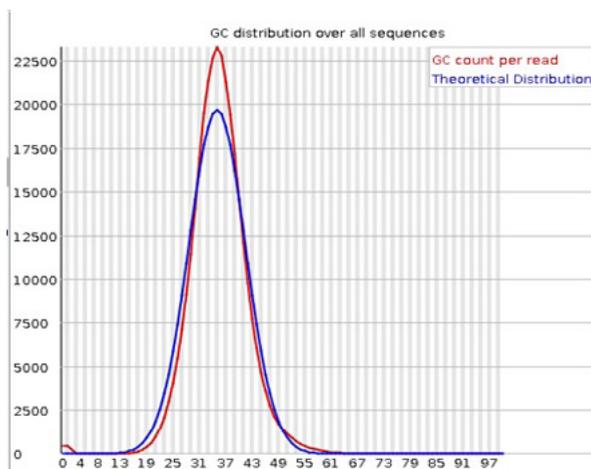


Figura 4.4 Contenido de GC sobre la secuencia Forward de *S. aureus*, dada por FASTQC.

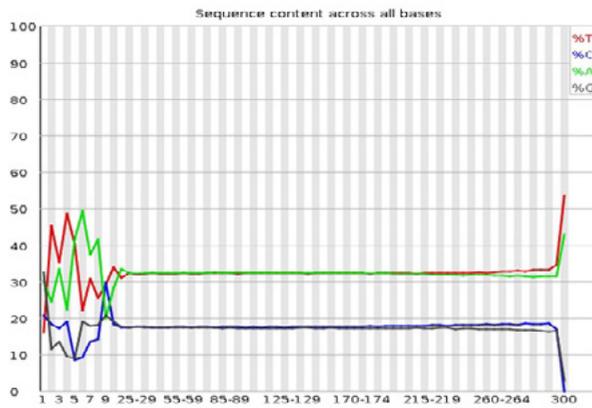


Figura 4.5 Contenido de bases en la secuencia Forward de *S. aureus*, dadas por FASTQC

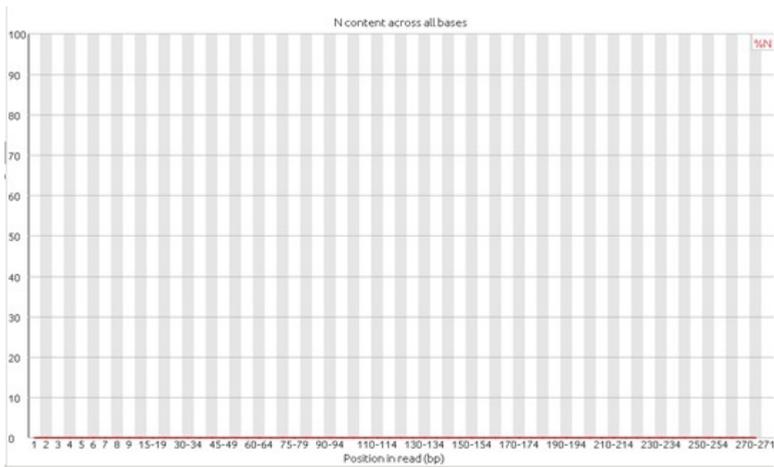


Figura 4.6 Contenido de N por base de la secuencia Forward de *S. aureus*, después de filtrado de calidad con Trimmomatic, dada por FASTQC

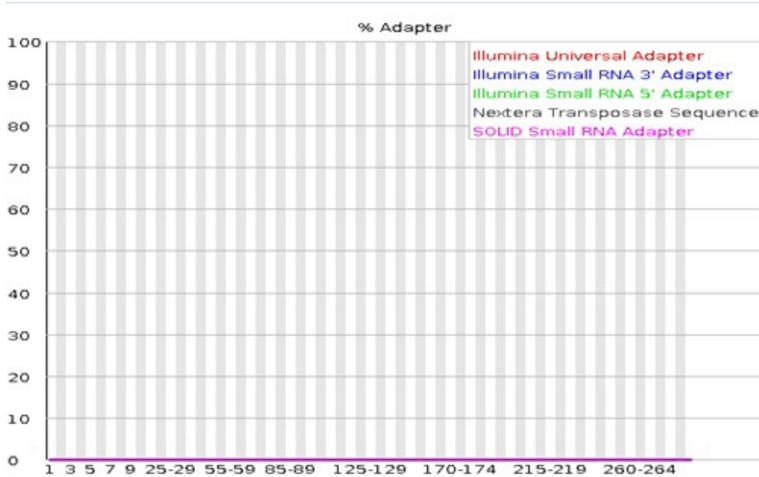


Figura 4.7 Adaptadores provenientes de los secuenciadores encontrados en la secuencia Forward de *S. aureus*, dadas por FASTQC

Alineación: BLAST

La alineación básica de similitud (BLAST) realizada a la secuencia ensamblada de *S. aureus*, directamente del sitio web del NCBI, para la búsqueda de una secuencia de referencia dio como resultados una similitud unánime con un porcentaje de identidad del 99.99%.

De igual manera se realizó un BLAST a la secuencia *S. aureus* para obtener una secuencia de referencia y utilizarla en análisis posterior, tomando como representativo un resultado de cobertura de consulta del 100% (Figura 4.8).

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
<input type="checkbox"/> <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> strain ATCC 6520, complete genome	29586	30592	100%	0.0	100.00%	CP020028.1

Figura 4.8 Resultados representativos de BLAST realizado a la secuencia *S. aureus* con una cobertura de búsqueda de 100%.

Alineación: QFAST

La alineación de la secuencia previamente ensamblada de *S. aureus* junto con la secuencia de referencia por la herramienta de línea de comando QFAST, muestra una similitud significativa para la cepa *S. aureus* (Figura 4.9).

S1	E1	S2	E2	Reference	Contig	IDY	Ambiguous	Best_group
1428134		1443071	14938	1	CP020020.1	NODE_1_length_14938_cov_7.70697	100	True
CONTIG	NODE_1_length_14938_cov_7.70697		14938	correct				
1442953		1454234	11282	1	CP020020.1	NODE_2_length_11282_cov_7.7039	100	True
CONTIG	NODE_2_length_11282_cov_7.7039		11282	correct				
153001		160967	1	7967	CP020020.1	NODE_3_length_7967_cov_7.63444	100	True
CONTIG	NODE_3_length_7967_cov_7.63444		7967	correct				
358579		365334	1	6756	CP020020.1	NODE_4_length_6756_cov_6.63765	100	True
CONTIG	NODE_4_length_6756_cov_6.63765		6756	correct				
2712135		2718811	1	6677	CP020020.1	NODE_5_length_6677_cov_9.84458	100	True
CONTIG	NODE_5_length_6677_cov_9.84458		6677	correct				
452748		459077	6330	1	CP020020.1	NODE_6_length_6330_cov_7.24456	100	True
CONTIG	NODE_6_length_6330_cov_7.24456		6330	correct				
2190783		2196355	5573	1	CP020020.1	NODE_7_length_5573_cov_7.79196	100	True
CONTIG	NODE_7_length_5573_cov_7.79196		5573	correct				
2262842		2268161	1	5320	CP020020.1	NODE_8_length_5320_cov_6.04044	100	True
CONTIG	NODE_8_length_5320_cov_6.04044		5320	correct				
390275		395385	5111	1	CP020020.1	NODE_9_length_5111_cov_5.94322	100	True
CONTIG	NODE_9_length_5111_cov_5.94322		5111	correct				
2309997		2314745	1	4749	CP020020.1	NODE_10_length_4749_cov_6.86781	99.98	True
CONTIG	NODE_10_length_4749_cov_6.86781		4749	correct				
2079724		2084291	4568	1	CP020020.1	NODE_11_length_4568_cov_7.74172	100	True
CONTIG	NODE_11_length_4568_cov_7.74172		4568	correct				
84781		89274	4494	1	CP020020.1	NODE_12_length_4494_cov_7.80879	100	True
CONTIG	NODE_12_length_4494_cov_7.80879		4494	correct				
89893		94358	4466	1	CP020020.1	NODE_13_length_4466_cov_8.35308	100	True
CONTIG	NODE_13_length_4466_cov_8.35308		4466	correct				
2132698		2137093	1	4396	CP020020.1	NODE_14_length_4396_cov_7.29679	100	True
CONTIG	NODE_14_length_4396_cov_7.29679		4396	correct				
289926		294223	4298	1	CP020020.1	NODE_15_length_4298_cov_5.7708	100	True

Figura 4.9 Resultados de alineación de la cepa *S. aureus* por Quast, contra la secuencia de referencia obtenida de NCBI.

Llamado de variantes: SAMTOOLS Tview

Tras realizar un llamado de variantes con el algoritmo Samtools, en la secuencia *S. aureus*, se utilizó su herramienta Tview, la cual no mostró variantes significativas respecto a la secuencia de referencia, obteniendo una calidad de bases $Q = \geq 30$, $Q = 20-29$ y $Q = 0-9$ en menor cantidad.

El uso de Tview para la secuencia de *S. aureus*, mostro calidades de $Q = >30$, $Q = 20-29$ e incluso $Q = 0-9$ en cantidades menores, encontrando variantes significativas en la secuencia en referencia a la secuencia obtenida de NCBI como secuencia de referencia (Figura 4.10).

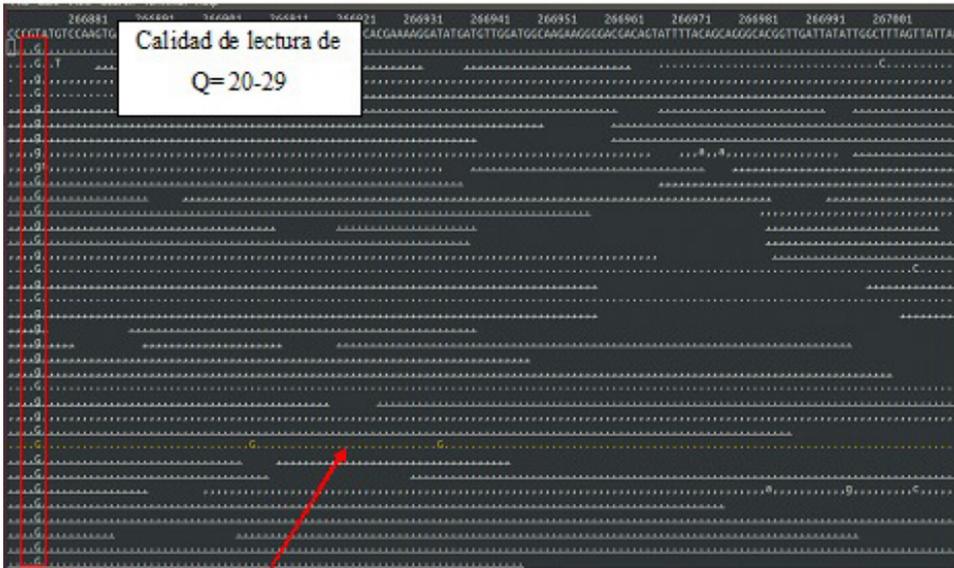


Figura 4.10 Samtools Tview en su llamado de variantes para *S. aureus*

Discusión

Una variante no siempre representa una mutación aberrante a resistencia bacteriana, el entendimiento de las mutaciones presentes en las secuencias genómicas descubiertas por los canales bioinformáticos, pueden realizarse mediante softwares o canales en los cuales, se encuentra información de secuencias relacionadas con mutaciones bacterianas, resistencia a medicamentos, entre otras, tal como se muestra en el estudio realizado por Phelan Et al, quienes en 2016, con sus resultados de ensamblaje de *nov* de *M. tuberculosis* y utilizando la herramienta con base web TBprofiler, realizan un llamado de

resistencia a medicamentos entre 14 medicamentos, utilizando los resultados de TBProfiler como base de identificación de cualquier supuesta mutación novedosa, descartando profundidades < 10 lecturas (Mikheenko, 2018).

Las herramientas bioinformáticas bajo licencia facilitan el manejo y análisis de secuencias completas de ADN pudiendo analizar y guardar la información en el mismo software de más de una secuencia de ADN, así como generar mapas genómicos de las mismas secuencias, sin embargo, el uso de softwares *open source* pueden realizar una búsqueda de mutaciones confiables si se realiza el uso correcto de las herramientas bioinformáticas.

Conclusiones

Las nuevas tecnologías de secuenciación proporcionan, en la actualidad, una utilidad fundamental en la búsqueda de mutaciones de secuencias de ADN. Si bien, la secuenciación de un genoma completo puede aportar la información necesaria para descubrir mutaciones en fragmentos de secuencias completas de ADN, la bioinformática y sus herramientas, complementan las técnicas moleculares de secuenciación y dan una lectura amplia y completa, así como un entendimiento preciso de los resultados.

En esta investigación fue posible utilizar una secuencia de programas bioinformáticos capaces de discernir entre secuencias con mala calidad y secuencias con una buena calidad de tal manera que el análisis pudiera ser enfocado utilizando únicamente las regiones del genoma que presentaran una calidad aceptable. El apropiado análisis bioinformático permite que los resultados obtenidos representen la secuencia real del microorganismo analizado.

Referencias

1. Aguilar-Bultet, L., & Falquet, L. (2015). Secuenciación y ensamblaje de novo de genomas bacterianos: una alternativa para el estudio de nuevos patógenos. *Salud Anim.*, 125-132.
2. Bautista, R. (2010, Juny). *Las tres generaciones de secuenciación*. Retrieved from ResearchGate: https://www.researchgate.net/publication/44708460_Las_tres_generaciones_de_la_secuenciacion
3. Baxevanis, A., & Ouellette, F. (2005). *Bioinformatics: a practical guide to the analysis of genes and proteins*. Canada: Wiley-Interscience.

4. Coronado Zamora, M. (2013). *Bioinformática al alcance*. Retrieved from ¿Qué es la bioinformática?: https://bioinformatica.uab.cat/genetica_tfg/bioinformaticaabast/Qué_es.html
5. Cortez Romero, C. (24 de 01 de 2019). Análisis y filtrado de datos genómicos. Zapopan, Jalisco, México.
6. Garrigues , F. (12 de Mayo de 2017). *Sanger: Estrategia de secuenciación de primera generación*. Obtenido de Blog de divulgación; genotipia: <https://genotipia.com/sanger/>
7. Illumina. (26 de 06 de 2019). *Illumina support*. Obtenido de FASTQ files explained: <https://support.illumina.com/bulletins/2016/04/fastq-files-explained.html>
8. Institute, B. (s.f.). *Babraham Bioinformatics*. Obtenido de FASTQC: <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>
9. Mahkovec, Z. (26 de 04 de 2018). *Building a high-quality, reliable, and efficient bioinformatics pipeline*. Obtenido de Color: <https://blog.color.com/building-a-high-quality-reliable-and-efficient-bioinformatics-pipeline-aa4a01e182ba>
10. Martínez Bernette, J. (2007). La bioinformática como herramienta para la investigación en salud humana. *Salud pública de México*, 64 - 66. Obtenido de Salud pública de México.
11. Maxam, A., & Gilbert, W. (1977). A new method for sequencing DNA. *Biochemistry*, 560 - 564.
12. Mikheenko, A., Prjibelski, A., Savaliev, V., Antipov, D., & Gurevich, A. (27 de 06 de (2018)). *Versatile genome assembly evaluation with QUAST-LG*. Obtenido de *Bioinformatics* 34 (13): i142-i150. doi: 10.1093/bioinformatics/bty266: <http://quast.bioinf.spbau.ru/manual.html>
13. Miller, J. R., Koren, S., & Sutton, G. (2010). Assembly algorithms for next-generation sequencing data. *Genomics*, 315 - 327.
14. Orozco-Andrade, I., Acosta-Loya, J. A., Bravo-Rodríguez, G., Martínez-Lozano, F. N., Espinoza-Hernández, M. E., Enríque-Porras, A., . . . Orozco-Béjar, I. A. (2018). Patrones de farmacorresistencia en población migrante con tuberculosis pulmonar. *Neumol Cir Torax*, 247 - 257.
15. Phelan, J., & et, a. (2016). The variability and reproducibility of whole genome sequencing technology for detecting resistance of anti-tuberculous drugs. *Genome Medicine*, 8:132.
16. Prendes, E. (19 de Diciembre de 2017). *Que es la secuenciación del genoma completo (WGS) y como esta ayudando a comprender las enfermedades*

- neuropsiquiatricas*. Obtenido de infotiti: <https://infotiti.com/2017/12/secuenciacion-de-genoma-completo-wgs/>
17. Raffino, M. E. (11 de 01 de 2019). *Algoritmo en informática*. Obtenido de Concepto.de: <https://concepto.de/algoritmo-en-informatica/>
 18. Sweigart, A. (2015). *Invent your our computers games with Python*. Estados Unidos: Open source initiative.

Desarrollo y aplicación de un sistema en continuo para la inactivación de microorganismos mediante fluidos supercríticos asistidos por ultrasonidos de potencia

Paniagua Martínez I.^{1a}, Ramírez-Martínez A.²

¹Grupo de Análisis y Simulación de Procesos Agroalimentarios, Departamento de Tecnología de Alimentos, Universitat Politècnica de Valencia, Camino de Vera S/N, E46022, Valencia, España

² Colegio de Postgraduados-Campus Veracruz, Posgrado en Agroecosistemas Tropicales, Km. 88.5 Carretera federal Xalapa, Veracruz, Tepetates, Municipio de Manlio Fabio Altamirano, 91700 Veracruz, México

^a Autor de correspondencia: ipaniagua@uv.mx

Palabras claves: Proceso no térmico, CO₂ supercrítico, ultrasonido, régimen continuo, Inactivación de *E. coli*.

Resumen

El proceso de inactivación mediante fluidos supercríticos asistido con ultrasonidos de potencia (SC-CO₂ + HPU) en un sistema en discontinuo ha sido estudiado. Los resultados mostraron que la combinación de ambas técnicas acelera la inactivación de *Escherichia coli* (*E. coli*). El objetivo de este trabajo fue el diseño y construcción de una planta de SC-CO₂ + HPU en régimen continuo y determinar el efecto sobre la inactivación de *E. coli*. Fueron inoculadas 10⁸ UFC/ml de *E. coli* en jugo de manzana comercial para ser tratado en un sistema en continuo con SC+CO₂ y SC+CO₂+HPU, evaluando la influencia de la presión (100-200 bar), temperatura (31°, 36° y 41° C) y tiempos de residencia (1.72, 2.58 y 5.44 min) sobre la inactivación del microorganismo. En los tratamientos con SC-CO₂+HPU, la agitación generada por los ultrasonidos permite la mezcla y contacto entre el CO₂ y las células rápidamente. Además, el daño en la pared celular del microorganismo causado por la cavitación, generada por los ultrasonidos, facilita la penetración del SC-CO₂ dentro de la célula y la extracción de componentes intracelulares, lo que acelera la muerte celular. Estos fenómenos permitieron que el nivel de inactivación se incrementara significativamente ($p < 0.05$) para todos los tratamientos realizados con HPU, respecto a los tratamientos en los que se empleó únicamente SC-CO₂.

Introducción

En la actualidad los consumidores demandan productos con características similares a los naturales, por lo que existe un creciente interés por las técnicas de conservación no térmicas. El objetivo de estas nuevas tecnologías es asegurar la conservación de alimentos, manteniendo el valor nutricional y propiedades organolépticas de los productos tratados, algunas de las tecnologías estudiadas son: luz pulsada [1], empleo de ozono [2], alta presión hidrostática [3], pulsos eléctricos [4], ultrasonidos de potencia [5], luz ultravioleta [6]. El proceso de inactivación mediante fluidos supercríticos (SC-CO₂) ha sido investigado como una técnica prometedora, ya que promueve un impacto mínimo sobre las propiedades nutricionales de los alimentos. Los mecanismos de inactivación de microorganismos mediante SC-CO₂ ha sido estudiado y se resumen en las siguientes etapas: 1, disolución del CO₂ en la fase líquida externa donde se encuentran las células suspendidas; 2, modificación de la membrana celular; 3, descenso del pH intracelular; 4, inactivación de enzimas clave; 5, efecto inhibitorio del CO₂ y HCO₃⁻; 6, modificación del equilibrio celular; 7, extracción y eliminación de componentes celulares y de la membrana celular; y 8, ruptura celular [7]. Sin embargo, tiempos prolongados son necesarios para garantizar la seguridad del alimento. Con el fin de obtener la letalidad requerida en tiempos de proceso menores. Ortuño et al. (2012) [8] estudió el efecto del CO₂ como fluido supercrítico asistido con ultrasonidos de potencia (SC-CO₂ + HPU) en un sistema en discontinuo, dicha tecnología ha presentado drásticas reducciones de tiempo de proceso, comparado con el uso solo de fluidos supercríticos. Sin embargo, en la industria alimentaria, se precisa de sistemas en continuo que permitan procesar grandes cantidades de producto, por lo que el objetivo de este trabajo fue el diseño y construcción de una planta de SC-CO₂ + HPU en régimen continuo. El equipo se aplicó para evaluar el efecto de las variables de proceso (presión, temperatura y caudal) sobre la inactivación de *E. coli* empleando jugo de manzana como sistema modelo.

Desarrollo

Los alimentos son susceptibles de ser transformados, ya sea por reacciones bioquímicas o por la acción de microorganismos que modifican sus características originales, provocando su deterioro. Para prolongar la vida útil de los alimentos se utilizan diferentes técnicas de conservación, siendo tradicionalmente los tratamientos térmicos los más empleados. Sin embargo, estas técnicas que emplean altas temperaturas, alteran las propiedades sensoriales y nutricionales del alimento.

Por ello, y junto a la demanda de los consumidores de alimentos frescos y naturales, existe un creciente interés por las técnicas de conservación no térmicas. El uso de CO₂ en estado supercrítico (SC-CO₂) es una de estas tecnologías. El SC-CO₂ ha sido reseñado por diferentes autores en la inactivación de enzimas y microorganismos, alterando mínimamente las propiedades sensoriales y nutricionales de los alimentos.

Los microorganismos cuya inactivación mediante SC-CO₂ ha sido estudiada comprenden desde bacterias gram-negativas como la *Salmonella typhimurium*, *E. coli* o *Yersinia enterocolitica*, a bacterias gram-positivas como *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes* o levaduras y hongos. En la mayoría de los estudios se ha observado que las células gram-positivas son más resistentes que las bacterias gram-negativas por el mayor espesor de su pared celular. La levadura *S. cerevisiae* presenta una pared similar a las bacterias gram-positivas, lo que hace que presente una resistencia frente a tratamientos de inactivación, similar a la de las bacterias gram-positivas.

Algunos autores han estudiado también el efecto del SC-CO₂ en un sistema en continuo, observando mayores reducciones comparando con sistemas de SC-CO₂ en discontinuo.

Por otra parte, el uso de fluidos supercríticos asistidos con ultrasonidos de potencia (HPU) permite una vigorosa agitación del medio, una rápida disolución del CO₂ en el medio y por tanto un aumento en la velocidad de los mecanismos de inactivación asociados al CO₂ supercrítico (caída rápida del pH intracelular, incremento en la transferencia de masa, mejora la extracción de los componentes intracelulares vitales para las células). Dicha tecnología ha sido desarrollada en un sistema en discontinuo, presentando importantes reducciones en el tiempo de inactivación microbiana, comparado con el uso solo de fluidos supercríticos. Sin embargo, en la industria alimentaria se precisa de sistemas en continuo que permitan procesar grandes cantidades de producto. Por otra parte, se ha reportado muy poca literatura donde se estudie el efecto de la combinación de SC-CO₂ y HPU sobre la calidad de los productos procesados.

Entorno Metodológico

La primera etapa del proyecto consistió en la transformación del sistema de inactivación de microorganismos empleando SC-CO₂+HPU en discontinuo a

continuo. Para lo cual, se tuvo en cuenta la necesidad de prolongar el tiempo de residencia del conjunto CO₂ supercrítico/producto a tratar. La fase de instalación comprendió la redistribución de todos los elementos para adaptarlos al nuevo sistema y se incorporaron diferentes elementos: depósito del líquido a tratar, bomba dosificadora de líquido, serpentín, depósito de separación y sistema de recirculación de CO₂, además de válvulas, manómetros y conexiones necesarias para garantizar el correcto funcionamiento y seguridad del equipo. Una vez que el equipo se encontró adaptado, se caracterizó el caudal de la bomba dosificadora de líquido bajo diferentes condiciones de presión.

En la segunda etapa se procedió a evaluar la inactivación de *E. coli*, para lo cual, se inoculó 1 litro de jugo de manzana comercial con 100 ml de medio LB que contenía 108 UFC/ml del microorganismo. Se estudió el efecto del SC-CO₂ y del SC-CO₂ asistido con ultrasonidos de potencia sobre la inactivación del microorganismo.

En ambos procedimientos fue analizada la influencia de la presión (100-200 bar), temperatura (31°, 36° y 41° C) y tiempo de residencia (1.72, 2.58 y 5.44 min) sobre la inactivación del microorganismo.

Para evaluar la inactivación, se extrajeron muestras de zumo, las cuales fueron diluidas en agua autoclavada y sembradas en LB agar e incubadas durante 24 h a 37°C. El número de células en la muestra control se determinó siguiendo la misma metodología. Los resultados se expresaron como log (N/N₀), donde N₀ es el número inicial de células en la muestra control y N el número de células en la muestra tratada.

Resultados y discusiones

El equipo (Figura 5.1) ha sido diseñado para soportar hasta 1000 bar de presión. La planta incluye un tanque de CO₂ (2) y un tanque de N₂ (1), que se mantiene a temperatura ambiente; un depósito de reserva que almacena el CO₂ a -18 °C (3); una bomba de CO₂ (4); baño termostático (13) para mantener el depósito de inactivación a la temperatura deseada; depósito del líquido a tratar (5), bomba dosificadora del líquido (6), serpentín (14), depósito de separación (15) y sistema de recirculación del CO₂ (17), además de válvulas, manómetros controladores de temperatura. Todas las conexiones que están en contacto con SC-CO₂ son de acero inoxidable tipo 316. Los medidores de presión y temperatura están instalados en el recipiente de inactivación para controlar que se alcanzaron las condiciones

supercríticas en un corto periodo de tiempo y posteriormente se mantuvieron durante el proceso.

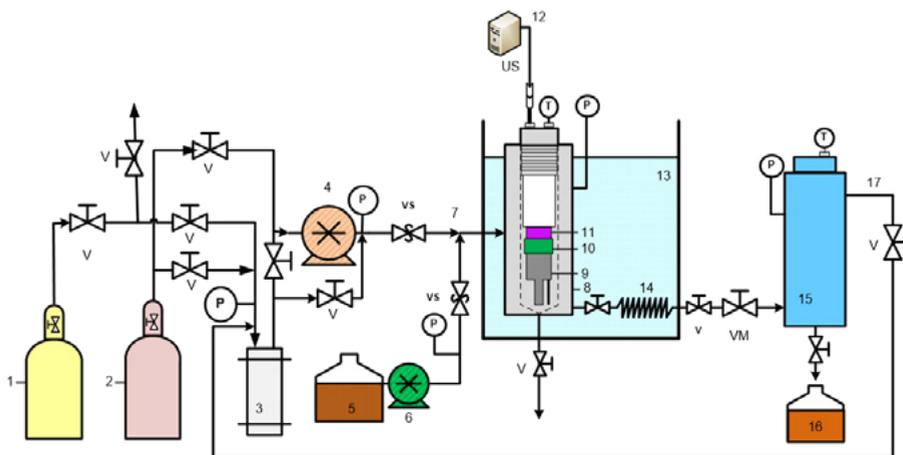
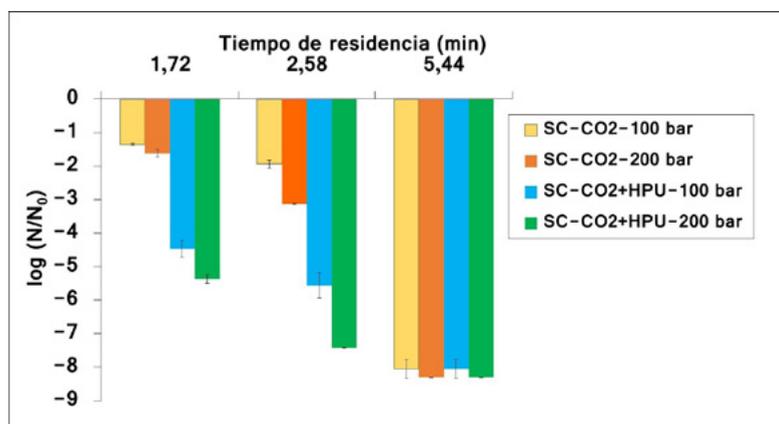


Figura 5.2 Diagrama del equipo de fluidos supercríticos asistidos por ultrasonidos en un sistema continuo. 1) Tanque N₂, 2) Tanque CO₂, 3) Reserva CO₂, 4) Bomba inyectora CO₂, 5) Depósito líquido a tratar, 6) Bomba dosificadora de líquido, 7) Punto de mezcla, 8) Reactor de tratamiento, 9) Transductor de Ultrasonidos, 10) Sistema de aislamiento, 11) Cerámicas, 12) Generador Ultrasonidos, 13) Baño termostático, 14) Serpentín, 15) Separador, 16) Líquido tratado, 17) Recirculación de CO₂, V) Válvula, VS) Válvulas antirretorno, VM) Válvula micrométrica, P) Manómetro, T) Sensor de temperatura.

Adicionalmente el equipo incluye un sistema de ultrasonidos [9]. Este sistema ha sido patentado juntamente con el procedimiento de inactivación y consiste en un transductor piezoeléctrico de alta potencia, un sistema de aislamiento y una unidad generadora de energía. El transductor ($>1 \text{ W/cm}^2$) es insertado dentro del recipiente de inactivación e incluye dos cerámicas comerciales (11) (35 mm de diámetro externo; 12.5 de diámetro interno; 5 mm de espesor; frecuencia de resonancia 30 kHz) y un transductor de ultrasonidos (9), que fue especialmente construido para concentrar la mayor cantidad de energía acústica en el punto de aplicación. El transductor es alimentado con energía constante por la unidad generadora de energía (12) durante el proceso SC-CO₂. Una parte fundamental del equipo es el sistema de aislamiento para las cerámicas piezoeléctricas. Consiste en un conjunto de polipropileno cubierto con teflón. Este aislamiento protege al transductor de posibles cortocircuito eléctrico que pueden ser causados al trabajar en un medio altamente conductor.

En los tratamientos con SC-CO₂-HPU, la agitación generada por los ultrasonidos permite la mezcla y contacto entre el CO₂ y las células rápidamente, de manera que se observó un incremento significativo ($p < 0.05$) para todos los tratamientos realizados con HPU, respecto a los tratamientos en los que se empleó únicamente SC-CO₂.

En el tratamiento con SC-CO₂ (100 bar, 31 °C y 2.58 min) se obtuvieron 3.29 ciclos logarítmicos de reducción, sin embargo, empleando SC-CO₂ + HPU a las mismas condiciones, se redujeron 7.42 ciclos logarítmicos. La inactivación de *E. coli* se favorece al incrementar la presión, temperatura y tiempo de residencia (Figuras 5.1, 5.2 y 5.3). A 31 °C y 100 bar se obtuvieron reducciones de 8 y 4.4 ciclos logarítmicos con tiempos de residencia de 5.44 y 1.79 min respectivamente, esto se debe al aumento en el tiempo de contacto entre el CO₂ y las células. En los resultados obtenidos en este estudio, para tiempos de residencia de 5.44 min (5 ml/min) se alcanzó una completa inactivación tras el tratamiento con SC-CO₂ y con SC-CO₂ + HPU. Los mecanismos de inactivación asociados al CO₂ supercrítico implican la disolución del CO₂ en el medio, la reducción del pH, aumento de la fluidez de la membrana celular de los microorganismos, la penetración del CO₂ dentro de las células y la alteración de su equilibrio celular, que tiene como consecuencia la inactivación de las mismas. Para observar la inactivación producida por el CO₂, es necesario el contacto entre éste y las células. Si el tiempo de residencia del jugo inoculado aumenta, el tiempo de contacto es mayor, por tanto, se espera un incremento del nivel de inactivación.



5.2 Inactivación de *Escherichia coli* en jugo de manzana, empleando SC-CO₂ y SC-CO₂ + HPU en un sistema en continuo a diferentes tiempos de residencia (31°C).

La aplicación de ultrasonidos de potencia en procesos de inactivación en continuo, permite obtener niveles de inactivación *E. coli* aceptables, utilizando tiempos de residencia menores de 2 min. De esta forma, se evitan efectos negativos en las propiedades organolépticas y nutricionales del jugo, que sí son provocadas en los tratamientos térmicos, donde se emplean temperaturas muy elevadas, que alteran características del jugo, como el sabor, olor, vitaminas, etc.

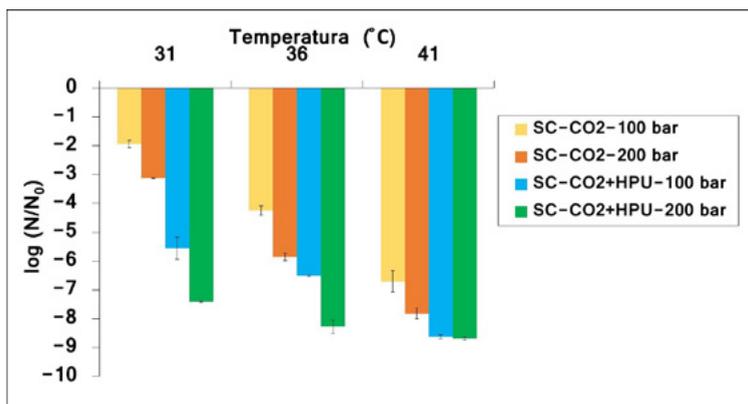


Figura 5.3 Inactivación de *Escherichia coli* en jugo de manzana empleando SC-CO₂ y SC-CO₂ +HPU en un sistema en continuo a diferentes temperaturas (2.58 min)

Conclusiones

Los resultados demostraron el potencial de la técnica SC-CO₂ + HPU en un sistema en continuo ya que el uso de condiciones de proceso suaves podrían conducir a un aumento en la calidad del producto tratado.

Referencias

1. Maftai, N. A., Ramos-Villaruel, A. Y., Nicolau, A. I., Martín-Belloso, O., & Soliva-Fortuny, R. (2014). Influence of processing parameters on the pulsed-light inactivation of *Penicillium expansum* in apple juice. *Food Control*, 41, 27-31.
2. Torlak, E. (2014). Efficacy of ozone against *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in apple juice. *International journal of food microbiology*, 172, 1-4.
3. Baptista, I., Queirós, R. P., Cunha, Â., Rocha, S. M., Saraiva, J. A., & Almeida, A. (2015). Evaluation of resistance development and viability recovery by

- toxigenic and non-toxigenic *Staphylococcus aureus* strains after repeated cycles of high hydrostatic pressure. *Food microbiology*, 46, 515-520.
4. Boulaaba, A., Kiessling, M., Töpfl, S., Heinz, V., & Klein, G. (2014). Effect of pulsed electric fields on microbial inactivation and gelling properties of porcine blood plasma. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 23, 87-93.
 5. Gabriel, A. A. (2014). Inactivation behaviors of foodborne microorganisms in multi-frequency power ultrasound-treated orange juice. *Food control*, 46, 189-196.
 6. Baysal, A. H., Molva, C., & Unluturk, S. (2013). UV-C light inactivation and modeling kinetics of *Alicyclobacillus acidoterrestris* spores in white grape and apple juices. *International journal of food microbiology*, 166(3), 494-498.
 7. Garcia-Gonzalez, L., Geeraerd, A. H., Spilimbergo, S., Elst, K., Van Ginneken, L., Debevere, J., ... & Devlieghere, F. (2007). High pressure carbon dioxide inactivation of microorganisms in foods: the past, the present and the future. *International journal of food microbiology*, 117(1), 1-28.
 8. Ortuño, C., Martínez-Pastor, M. T., Mulet, A., & Benedito, J. (2012). An ultrasound-enhanced system for microbial inactivation using supercritical carbon dioxide. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 15, 31-37.
 9. Benedito, J., Martínez-Pastor, M.T., Mulet, A., Ortuño, C., & Peña, R. Procedure of inactivation microorganisms by combination of supercritical fluids and ultrasound. Spain. Patent No. P201131099, 2011.

Empleo de enzimas lignocelulósicas para la revalorización de residuos agroindustriales

García-Béjar, J.¹, Sandoval Fabián, G.², Amaya-Delgado L.^{1a},

¹ Unidad de Biotecnología Industrial de la subsede Zapopan del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. (CIATEJ A.C.)

² Unidad de Biotecnología Industrial de la sede Guadalajara del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. (CIATEJ A.C.)

^a Autor de correspondencia: lamaya@ciatej.mx

Palabras claves: enzimas lignocelulósicas, residuos agroindustriales

Resumen

Actualmente, el aprovechamiento integral de los recursos y desechos generados por las actividades económicas, entre ellas la agroindustria, ha sido de interés debido al potencial que poseen los residuos lignocelulósicos para la obtención de diversos metabolitos a través de procesos biotecnológicos. Los residuos lignocelulósicos se conforman principalmente por tres polímeros estructurales; celulosa, hemicelulosa y lignina, que, para poder ser utilizados es necesario aplicar una serie de operaciones como el pretratamiento y la hidrólisis enzimática. El pretratamiento permite el rompimiento de la matriz lignocelulósica para facilitar su digestibilidad; mientras que, en la hidrólisis enzimática o sacarificación, diferentes enzimas lignocelulósicas actúan bajo sinergia para la liberación de azúcares y demás compuestos que puedan resultar de interés comercial. Las enzimas lignocelulósicas son producidas principalmente por hongos filamentosos a través de fermentación en estado sólido, para generar cocteles enzimáticos que son usados a escala industrial. Durante la sacarificación, existen algunas limitantes como la carga de sólidos y la inhibición enzimática, las cuales no han permitido extender el uso de estos bioprocesos a nivel comercial. Finalmente, los azúcares liberados en la hidrólisis son empleados como sustrato para la obtención de múltiples productos de valor comercial como biocombustibles, ácidos orgánicos, moléculas con propiedades nutraceuticas, entre otros.

Introducción

Durante la producción y procesamiento de productos destinados a la alimentación humana, diversos residuos agroindustriales son generados y eliminados al ambiente, provocando efectos de contaminación. Uno de los principales residuos generados en las actividades agroindustriales son los residuos lignocelulósicos. Estos desechos lignocelulósicos se pueden clasificar de acuerdo con su origen; como, por ejemplo, los cultivos destinados para la producción de energía, los originados tras la cosecha de los cultivos (hojas, rastrojo, tallos y vainas), así como los que son producidos durante su transformación (cáscaras, bagazos, paja y raíces). Debido a su composición, los residuos lignocelulósicos poseen un alto potencial para la obtención de compuestos bioactivos, además de tener un valor nutricional tanto para la alimentación animal como para el crecimiento de microorganismos, siendo la base para la obtención de diversos productos de valor agregado como fibras, fenoles, vitaminas, azúcares, ácidos orgánicos, biocombustibles, compuestos aromáticos, entre otros. Dentro de las herramientas biotecnológicas para facilitar su aprovechamiento, se encuentra el uso de enzimas hidrolíticas (lignocelulasas) que permiten desdoblar las complejas estructuras lignocelulósicas para obtener estos productos; sin embargo, aún es una tecnología que se encuentra en vías de desarrollo para su extensión a niveles comerciales. La presente revisión muestra un panorama general sobre las enzimas lignocelulósicas, su clasificación, producción y utilización en el aprovechamiento de los residuos agroindustriales.

Residuos lignocelulósicos

El término biomasa, en el sentido más amplio, es todo material orgánico proveniente de seres vivos; sin embargo, para objeto de este análisis, la biomasa vegetal o lignocelulósica, comprende a todos aquellos cultivos energéticos, desechos municipales, desechos de la agricultura, la silvicultura y el procesamiento de la madera, incluyendo así, los residuos generados por la agroindustria (Yan et al., 2020).

La composición de la biomasa es muy diversa. Por ejemplo, los residuos de origen vegetal están constituidos principalmente de celulosa, hemicelulosa, lignina y algunos otros compuestos, con porcentajes variables entre sí, dependiendo de la fuente (Tabla 6.1).

Celulosa

La celulosa es el biopolímero más abundante en la tierra, con aproximadamente 1.5×10^{12} toneladas generadas cada año. Por tanto, representa una enorme cantidad de recurso renovable para la obtención de distintas moléculas de interés. La celulosa es un polisacárido lineal con un peso molecular alto y un máximo de 10,000 unidades monoméricas de D-glucosa, unidas por enlaces β -1,4-glicosídicos. La reactividad y morfología de las cadenas de celulosa están sustancialmente determinadas por el enlace de hidrógeno intermolecular entre el grupo hidroxilo en el carbono C-3 y el oxígeno del anillo glicosídico cercano. La formación de estos enlaces provoca que las moléculas sean más estables y rígidas. En algunos casos, la presencia de muchos enlaces intermoleculares puede generar una región cristalina ordenada debido a la considerable proximidad entre las moléculas de glucosa. Por otra parte, la región amorfa de la celulosa (sin un ordenamiento específico entre los monómeros) es la parte más expuesta de la molécula y es la primera en ser atacada por enzimas celulasas que conduce a la hidrólisis de la misma. (Tursi, 2019).

Hemicelulosa

La hemicelulosa es el segundo componente en mayor proporción en las paredes vegetales y está constituida por polisacáridos ramificados heterogéneos. Está fuertemente ligada a la superficie de las microfibras de celulosa y su contenido y estructura difieren de acuerdo con la fuente de obtención (Podkaminer et al., 2012).

En la naturaleza, la hemicelulosa es amorfa y consiste casi en su totalidad en azúcares del tipo pentosa (xilosa y arabinosa) y algunas hexosas (glucosa, galactosa, manosa y ramnosa) alcanzando un grado de polimerización promedio de 30,000. Los diferentes grupos de moléculas que componen la hemicelulosa incluyen xilanos, mananos, galactanos y arabinogalactanos, siendo el xilano el de mayor porcentaje. El xilano se conforma por monómeros de D-xilosa unidos por enlaces β -1,4, se encuentra ramificado por residuos de L-arabinosa, ácido D-glucurónico, ésteres de acetilo y de ácidos hidroxicinámicos (Naidu et al., 2018).

Lignina

El término lignina denota a un polímero aromático amorfo complejo, compuesto por unidades de fenilpropano unidas entre sí. Las unidades monoméricas se mantienen

juntas de diferentes maneras: a través de puentes de oxígeno entre dos grupos propilo y fenilo, entre un grupo fenilo y un propilo, o mediante enlaces carbono-carbono entre los mismos grupos. En particular, esta macromolécula se forma mediante la polimerización oxidativa radical de tres alcoholes hidroxicinámicos que representan los monómeros estructurales básicos: alcohol cumarínico, coniferilo y sinapílico, Además, en la estructura de la lignina, hay múltiples grupos polares y grupos hidroxilo que permiten el establecimiento de fuertes enlaces de hidrógeno intramoleculares e intermoleculares, volviéndolo un polímero de alta resistencia y muy baja solubilidad (Chauhan, 2020; Duval y Lawoko, 2014).

La Tabla 6.1 contiene algunas de las biomásas lignocelulósicas mayormente reportadas, y sus respectivas composiciones

El proceso general para el aprovechamiento de los residuos agroindustriales se representa en la figura 6.1 Dicho proceso consta de 3 etapas principales: pretratamiento (secado, reducción de tamaño, humectación, modificación de estructura, entre otros), hidrólisis enzimática y biotransformación.

Tabla 6.1 Composición estructural de algunos residuos agroindustriales. Recuperado y modificado de Rocha-Meneses et al. (2017).

Biomasa lignocelulósica	Composición (% p/p)		
	Celulosa	Hemicelulosa	Lignina
Algodón	80–95	5–20	–
Pasto	25–40	25–50	10–30
Maderas duras	45±2	30±5	20 ± 4
Corteza de maderas duras	22–40	20–38	30–55
Maderas blandas	42±2	27±2	28±3
Corteza de maderas blandas	18–38	15–33	30–60
Rastrojo de maíz	39–47	26–31	3–5
Rastrojo de sorgo	27	25	11
Paja de sorgo	32	24	13
Paja de arroz	28–36	23–28	12–14
Paja de trigo	33–38	26–32	17–19
Paja de cebada	31–45	27–38	14–19
Bagazo de caña	32–48	19–24	23–32
Bagazo de agave	28±2	15	10

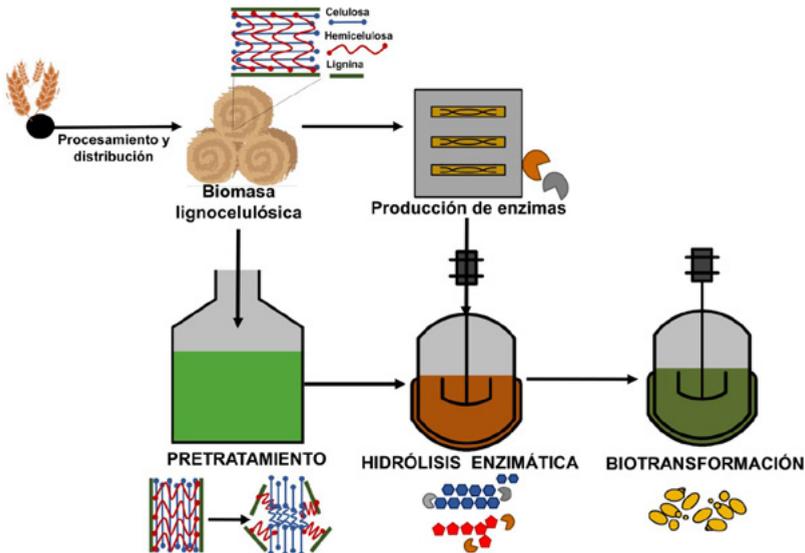


Figura 6.1 Diagrama de proceso para la transformación de biomasa lignocelulósica en productos de valor añadido.

Pretratamiento de biomasa lignocelulósica

La finalidad del pretratamiento es modificar la estructura y las dimensiones del material lignocelulósico. Tiene el efecto de solubilizar la hemicelulosa o lignina, reducir la cristalinidad de la celulosa y aumentar el área de superficie disponible y porosidad del sustrato para que las enzimas actúen de una manera más eficiente. Un pretratamiento efectivo debe cumplir los siguientes requisitos: (1) Obtener un material sólido altamente digestible, que mejore el rendimiento de liberación de azúcares durante la hidrólisis enzimática, (2) evitar la degradación de azúcares, principalmente las pentosas derivadas de la hemicelulosa, (3) minimizar la formación de inhibidores de la fermentación como furfural e hidroximetilfurfural (4) recuperar la fracción de lignina para su conversión en co-productos de valor agregado y (5) ser rentable económica y ambientalmente, reduciendo el gasto energético y el impacto ecológico (Brodeur et al., 2011).

Los métodos y tecnologías de pretratamiento generalmente se clasifican en físicas, química, fisicoquímica y biológica.

Métodos físicos

El objetivo principal del pretratamiento físico es la reducción del tamaño y ruptura de las partículas de los biopolímeros mediante fragmentación, trituración, molienda e interacciones mecánicas. El pretratamiento físico también incluye métodos como radiación de microondas, sonicación, secado por atomización, radiación gamma y pirolisis (Kucharska et al., 2018).

Métodos químicos

El pretratamiento químico se ha convertido en una de las opciones más prometedoras para mejorar la biodegradabilidad de la celulosa, ya que reduce su grado de polimerización (DP, por sus siglas en inglés) y cristalinidad, y a su vez, elimina la lignina y/o hemicelulosas, además de otros componentes que puedan afectar el rendimiento de las enzimas en procesos posteriores (Agbor et al., 2011).

En esta clasificación, se emplean soluciones ácidas, alcalinas o neutras. Bajo condiciones ácidas (usando ácidos minerales como H_2SO_4 , HCl, H_3PO_4 y HNO_3 o ácidos orgánicos como fumárico, maleico y acético) la hemicelulosa se solubiliza en xilosa y otros azúcares residuales unidos a esta, dejando atrás la celulosa y la lignina (Kumari y Singh, 2018). Se distinguen dos principales tipos de pretratamiento ácido: concentrado y diluido (hasta 5% v/v). La desventaja de utilizar este tipo de pretratamiento es la generación de compuestos inhibitorios, la formación de sales tras la neutralización y la corrosión del reactor utilizado (Jung y Kim, 2015).

Los pretratamientos alcalinos (soluciones de KOH, NaOH y NH_3 principalmente) aumentan el área de superficie efectiva interna de la celulosa, disminuyen su cristalinidad, y solubilizan la lignina. Durante este proceso, pequeñas cantidades de hemicelulosa y celulosa también se pueden solubilizar (Chen y Qiu, 2010).

Dentro de la clasificación de pretratamientos químicos se encuentra el *organsolv*, en el cual se emplean solventes orgánicos o mezclas de estos (metanol, etanol, acetona o etilenglicol) a altas temperaturas, logrando la remoción de la lignina y fracciones de pectinas presentes (Harmsen et al., 2010).

La concentración del catalizador empleado, la carga de sólidos, la temperatura de operación, el tiempo de retención y el tamaño de partícula, son las variables

más importantes que considerar durante el pretratamiento químico (Karimi et al., 2013; Balan, 2014).

Métodos fisicoquímicos

Esta categoría de pretratamiento incluye métodos que combinan cambios físicos y reacciones químicas en el material lignocelulósico. Generalmente, la biomasa es tratada a altas temperaturas y/o bajo presión con un compuesto inorgánico, lo que conduce a la ruptura de su estructura recalcitrante (Jędrzejczyk et al., 2019). Uno de los pretratamientos de característica fisicoquímica mayormente utilizados es la explosión de vapor, donde la biomasa es colocada en un reactor de alta presión, posteriormente es calentado a altas temperaturas (200-260°C) empleando vapor saturado (2000-5000 kPa). Transcurrido unos minutos, la válvula de presión se abre para reducir la presión, generando una expansión explosiva provocada por la humedad en la biomasa, produciéndose así, la disrupción de las fibras del material (Oh et al., 2015; Pielhop et al, 2016).

Una variante del método anterior es la expansión de fibras catalizada por amoníaco, AFEX, por sus siglas en inglés (*Ammonia Fiber Expansion*), en donde se emplea amoníaco en estado líquido a temperaturas de moderadas a altas (60-200 °C) y presiones entre 6.5-45 kPa. Este tratamiento alcanza la eliminación de la lignina y algunas hemicelulosas, además de la descristalización de la celulosa, debido a la fuerte afinidad del amoníaco por dichos componentes lignocelulósicos (Chundawat et al., 2011).

Métodos biológicos

Los métodos de pretratamiento biológico incluyen tanto el empleo de microorganismos o consorcios de estos, así como de enzimas o extractos crudos derivados de estos organismos (lacasas y peroxidasas principalmente) para la hidrólisis de diferentes fracciones lignocelulósicas. Los hongos marrones, blancos y de podredumbre blanda han sido reportados eficientes para la degradación de lignina y hemicelulosas (Sindhu et al., 2016). Distintos hongos de podredumbre blanca como *Phanerochaete chrysosporium*, *Cyathus stercolerus*, *Pycnoporus cinnabarinus* y *Pleurotus ostreatus* han sido empleados por su eficiencia de degradación de lignina. De igual manera, el empleo de bacterias con alta actividad enzimática celulasa como *Cellulomonas fimi*, *Thermomonospora fusca* y *Paenibacillus campinasensis* han sido utilizadas tanto en monocultivo como en

co-cultivos con distintos hongos degradadores para optimizar la degradación de materiales lignocelulósicos (Sharma et al., 2019). Si bien, son métodos que requieren poco gasto energético y generan menor impacto ambiental en contraste a los métodos descritos anteriormente, los largos tiempos de operación y los bajos rendimientos de degradación los convierten en poco factibles.

El tipo y las condiciones de un pretratamiento afectan directamente al desarrollo y eficiencia de procesos posteriores, como la hidrólisis enzimática y fermentación, por lo tanto, la elección de un método de pretratamiento está influenciada por diferentes factores, tales como la conservación y digestibilidad de carbohidratos, rendimiento de obtención de azúcares y otras moléculas de interés, consumo de energía, costos de equipos, catalizadores y solventes, remoción y calidad de lignina, formación de productos de degradación de azúcares/lignina, producción de desechos, uso de agua, entre otros (C. Bensah y Y. Mensah, 2019).

Enzimas lignocelulasas

La lignocelulosa es el polímero más abundante en la tierra. Alrededor del 50% de la biomasa está compuesto por este material. Para su degradación y aprovechamiento, el empleo de enzimas se ha extendido en las últimas décadas. Estas enzimas son cruciales para convertir las complejas matrices de celulosa y hemicelulosa en azúcares disponibles para su uso por diferentes organismos, y así obtener numerosos productos químicos y metabolitos de valor añadido (Abdel-Hamid et al., 2013; Khare et al., 2015). En la Figura 6.2 se presenta la clasificación general de las enzimas lignocelulasas (www.cazy.org; Nguyen et al., 2018).

Enzimas celulasas

Las celulasas o glucanasas son un grupo de enzimas que catalizan la bioconversión de la celulosa en azúcares solubles y glucosa. Este proceso se efectúa en dos etapas. En la primera etapa, las endoglucanasas y exoglucanasas degradan el sustrato celulósico y lo liberan a la fase líquida en forma de oligómeros de cadena corta solubles. En la segunda etapa, las β -glucosidasa transforman la celobiosa en glucosa (Shah et al., 2019).

Las celulasas se agrupan en glucósido-hidrolasas (GH). De acuerdo con la base de datos de enzimas activas de carbohidratos (CAZy), las endoglucanasas se encuentran en las familias GH 5-8, 12, 16, 44, 45, 48, 51, 64, 71, 74, 81, 87, 124 y 128.

Las exoglucanasas o celobiohidrolasas son clasificadas en las familias GH 5-7 y 48 y las β -glucosidasas en las familias GH 1, 3, 4, 17, 30 y 116 (www.cazy.org; Juturu y Chuan, 2014).

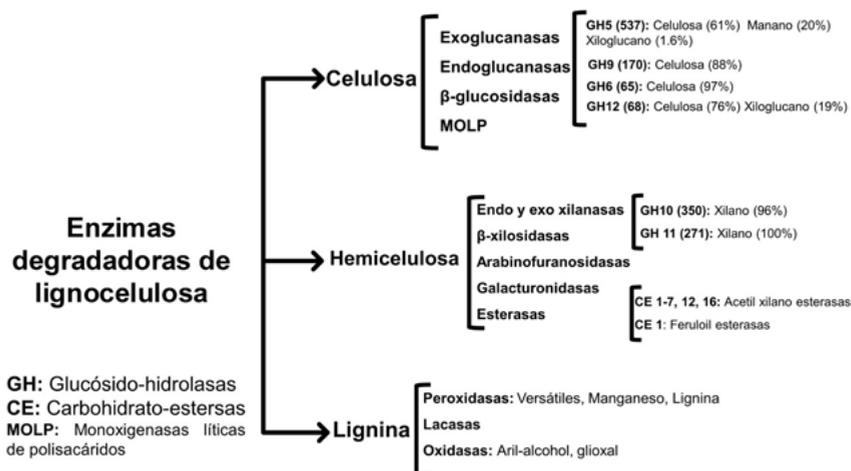


Figura 6.2 Clasificación de enzimas lignocelulasas. GH y CE representan el número de familia de las glucósido-hidrolasas y carbohidrato esterases, respectivamente, además de las enzimas reportadas por familia (entre paréntesis). Los valores en porcentaje expresan la afinidad enzimática a los múltiples polisacáridos.

Endocelulasas. Las endocelulasas o 1,4- β -D-glucano-4-glucanohidrolasas (EC 3.2.1.4) escinden de forma aleatoria en los enlaces β -1,4 de las regiones amorfas de la celulosa, obteniéndose largas cadenas de glucosa con extremos no reductores (Dimarogona et al., 2012). Su principal objetivo es iniciar con la despolimerización del glucano, para favorecer la accesibilidad de las enzimas posteriores.

Exoglucanasas. Las exoglucanasas están conformadas por dos grandes grupos: las exo-1,4- β - glucanasas (EC 3.2.1.91) y las celobiohidrolasas (EC 3.2.1.176) (Van Dyk y Pletschke, 2012). Su mecanismo de acción es hidrolizar el polímero de celulosa por el extremo reductor y no reductor, para liberar moléculas de celobiosa, y en algunas ocasiones, glucosa (Bhattacharya et al., 2015).

Celobiasas. El último paso para la degradación completa de la celulosa es efectuado por las celobiasas o β -glucosidasas (EC 3.2.1.21). Su función es la de hidrolizar las

moléculas de celobiosa o de algunos oligómeros cortos como la celodextrina, para poder liberar D-glucosa (Ketudat y Asim, 2010).

Monooxigenasas líticas de polisacáridos. Las monooxigenasas líticas de polisacáridos (LPMOs por sus siglas en inglés) son enzimas que contienen cobre y catalizan la ruptura oxidativa de los enlaces glicosídicos. Su principal función es la disminución de la cristalinidad de la celulosa (Chylenski et al., 2019). Auxiliar a este complejo enzimático, se encuentra la celobiosa deshidrogenasa (EC 1.1.99.18), que cataliza la oxidación de dos electrones de celobiosa (el producto de celobiohidrolasas) a celobionolactona, mientras genera FADH₂ para la favorecer la actividad catalítica de las LPMOs (Laurent et al., 2019).

Enzimas hemicelulasas

Las hemicelulasas son enzimas clave en la degradación de la biomasa vegetal y el flujo de carbono en la naturaleza. Los módulos catalíticos de las hemicelulasas son igualmente las glucósido-hidrolasas (GH) que hidrolizan enlaces glicosídicos, además de las carbohidrato-esterasas (CE), las cuales escinden los enlaces éster de grupos laterales de acetato o ácidos hidroxicinámicos. Estos módulos catalíticos se pueden asignar a las endo y exo xilanasas que se encuentran en las familias GH 10 y 11 principalmente. Por otra parte, las acetil-xilano estererasas y feruloil estererasas se clasifican en las familias CE 1-7 (Shallom, 2003). En la Figura 6.3 se muestran los sitios de acción de diversas enzimas hemicelulasas.

Xilanasas. Las endo-1,4-β-xilanasas (E.C.3.2.1.8) y endo-1,3-β-xilanasas (EC 3.2.1.32) están involucradas en la escisión de los enlaces glicosídicos y en la liberación de xilooligosacáridos (XOS) cortos, mientras que las 1,4-β-xilosidasas (EC.3.2.1.37) eliminan sucesivamente los residuos de D-xilosa de los extremos no reductores, catalizando la hidrólisis de β-1,4-D-xilo-oligosacáridos. Por otro lado, las exo-1,4-β-xilanasas, (E.C.3.2.1.37) actúan sobre el extremo reductor del xilano, liberando oligómeros de cadena corta, además de hidrolizar XOS con un grado de polimerización de ≥ 2-3 para liberar xilosa (Juturu y Wu, 2014).

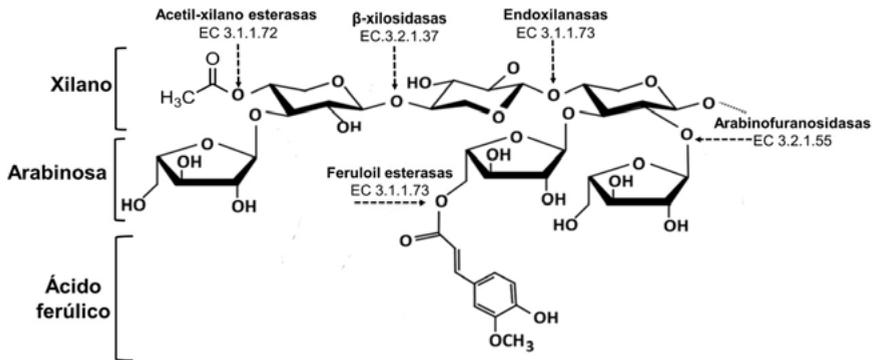


Figura 6.3 Hidrólisis de hemicelulosa bajo la acción de múltiples enzimas. Recuperado y modificado de Anson et al. (2012).

Manasas, arabinasas y glucuronidasas. La endo-1,4-manasas (EC 3.2.1.78) hidrolizan los enlaces internos del manano, para generar oligómeros de β -1,4-manano, los cuales son hidrolizados posteriormente por las β -manosidasas (EC 3.2.1.25) para obtener manosa. Las enzimas α -L-arabinasas (EC 3.2.1.99) y α -L-arabinofuranosidasas (EC 3.2.1.55) hidrolizan conjuntamente el arabinano existente en las cadenas laterales del xilano para liberar arabinosa. La α -D-glucuronidasa (EC 3.2.1.131), perteneciente a la familia GH 67, es responsable de escindir las sustituciones de α -(1–2) enlazado al ácido α -(4-O-metil)-D-glucorónico en el esqueleto de xilano (Juturu y Wu, 2012).

Esterasas. Las acetil-xilano esterazas (EC 3.1.1.72) se clasifican en las familias CE 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 12 y 16. Se encargan de hidrolizar sustituciones de acetilo en cadenas laterales de xilano, mientras que las feruloil-xilano esterazas (EC 3.1.1.73) catalizan la hidrólisis de grupos éster ferulados presentes en las cadenas periféricas de arabinosa, liberando ácido ferúlico y otros ácidos hidroxicinámicos (Juturu y Wu, 2012).

Enzimas ligninasas

Posterior a la celulosa y hemicelulosa, la lignina es el segundo compuesto más abundante. A lo largo de los años, cuatro actividades enzimáticas se han reportado que despolimerizan la lignina; lignina-peroxidadas (LiP), manganeso-peroxidadas (MnP), peroxidadas versátiles (PV) y lacasas. Estas enzimas han ganado atención

como potenciales catalizadores biológicos para la biodegradación de la lignina (Pollegioni et al., 2015).

Peroxidasas. Las lignina-peroxidadas (EC 1.11.1.14) catalizan la despolimerización oxidativa de la lignina dependiente de H₂O₂. Se ha reportado que oxidan tanto sustratos aromáticos fenólicos como no aromáticos, además de otros compuestos orgánicos. La oxidación de la lignina se realiza mediante transferencia de electrones, escisiones no catalíticas de enlaces y apertura de anillos aromáticos (Chauhan, 2020).

Lacasas. Las lacasas (EC 1.10.3.2), entre ellas, la ascorbato-oxidasa, ceruloplasmina y bilirrubina-oxidasa; son enzimas multiméricas que efectúan la oxido-reducción de distintos compuestos mediadas por cobre. Dentro de los sustratos que pueden utilizar estas enzimas se encuentran compuestos aromáticos y no-aromáticos, iones metálicos (como Mn⁺²) y organometálicos. (Saldarriaga-Hernández et al., 2020; Strong y Claus, 2011).

Producción de enzimas lignocelulasas

La biotecnología brinda herramientas que permiten transformar los residuos lignocelulósicos en materias primas para producir productos de valor agregado. La mayoría de estos desechos y subproductos son de naturaleza lignocelulósica, lo que puede favorecer el crecimiento de microorganismos para producir enzimas que logren degradar este biopolímero.

Así mismo, el mercado mundial de enzimas podría alcanzar los \$ 7.0 mil millones (USD) en 2023, entre ellas, las enzimas lignocelulasas representan más del 20% de las ventas mundiales de enzimas disponibles comercialmente, y tienen aplicaciones en la industria de textiles, alimentos, de la celulosa y el papel, para la obtención de biocombustibles y productos farmacéuticos (Leite et al., 2021).

En este contexto, los hongos filamentosos son las principales fuentes de enzimas celulasas comerciales, entre ellos, resaltan las especies *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*; sin embargo, son los hongos del género *Trichoderma* (*T. viride*, *T. longibrachiatum*, *T. reesei*, *T. atroviridae*) los de mayor capacidad degradadora de celulosa cristalina. Del mismo modo, se ha reportado que el género *Aspergillus* es un buen productor de celulasas, específicamente de β-glucosidasas (Suhag, 2014)

Por otra parte, la obtención de enzimas lignocelulósicas a partir de actinobacterias ha ganado especial interés, debido a sus rápidas tasas de crecimiento, su habilidad de producir complejos multienzimáticos que presentan mayor funcionalidad y especialidad, y a su capacidad adaptativa en contraste a los hongos filamentosos (Chukwuma et al., 2020).

Las capacidades, perfiles y rendimientos de producción de enzimas de un mismo organismo dependen en gran medida del sustrato lignocelulósico utilizado, la suplementación de nutrientes, las condiciones medioambientales y el sistema fermentativo empleado.

La gran mayoría de las enzimas son producidas bajo tecnologías de fermentación, sin embargo, en últimas décadas, ha habido una tendencia creciente hacia la utilización de la técnica de fermentación en estado sólido (FES) para producir enzimas (Mansour et al., 2016; Rodríguez-Couto y Sanromán, 2005). La FES es definida como un proceso de fermentación que ocurre en ausencia de agua corriente, empleando un soporte natural o un soporte inerte como material sólido (Pandey, Soccol, & Mitchell, 2000). La tabla 6.2 muestra algunos reportes de producción de enzimas lignocelulósicas bajo distintas tecnologías fermentativas (TF).

Debido a que la productividad y diversidad de enzimas obtenidas por un microorganismo puede ser limitada, se han desarrollado cocteles multienzimáticos, que ofrecen altos rendimientos de bioconversión de lignocelulosa a nivel industrial (Lopes et al., 2018). La tabla 6.3 resume la composición de enzimas reportadas en diferentes preparaciones enzimáticas comerciales utilizadas para la degradación de materiales lignocelulósicos.

Actualmente, la mayoría de las enzimas y preparaciones multienzimáticas que se comercializan a gran escala, han sido obtenidas mediante la bioprospección de nuevos microorganismos y enzimas con mayores rendimientos, bajo técnicas moleculares (diseño racional, evolución dirigida y enzimas bifuncionales), con la finalidad de mejorar sus capacidades catalíticas y su desempeño en operaciones a nivel industrial (Mohanram, et al., 2013).

Tabla 6.2 Producción de enzimas lignocelulasas empleando residuos agroindustriales.

Enzima	Microorganismo	TF	Sustrato	Productividad	Referencia
Exoglucanasa	<i>Aspergillus fumigatus</i>	FES	Paja de trigo	27.66 U·g ⁻¹ ·día ⁻¹	(Mahmood et al., 2013)
Exoglucanasa y β-glucosidasa	<i>Trichoderma viride</i> y <i>Ganoderma lucidum</i>	FES	Rastrojo de maíz	97 y 51 U·mL ⁻¹ · día ⁻¹	(Shahzadi et al., 2014)
Endoglucanasa	<i>Streptomyces diastaticus</i>	FS	Licor de maíz, salvado de avena y bagazo de caña	0.25 U·mL ⁻¹ ·día ⁻¹	(Bispo et al. 2018)
β-glucosidasa	<i>Thermoascus aurantiacus</i>	FES	Bagazo de caña y salvado de avena	2 U·mL ⁻¹ ·día ⁻¹	(Aparecida et al., 2020)
Endoxilanas	<i>Penicillium citrinum</i>	FES	Bagazo de caña	459 U·g ⁻¹ ·día ⁻¹	(Ghoshal et al., 2016)
β-xilosidasa	<i>Trichoderma asperellum</i>	FS	Paja de arroz	1.17 U·mL ⁻¹ ·día ⁻¹	(Inoue, et al., 2016)
Celulasas y xilanasas (mezcla)	<i>Penicillium citrinum</i> y <i>Aspergillus fumigatus</i>	FES	Bagazo de agave	12.403 U·g ⁻¹ ·día ⁻¹ 26.705 U·g ⁻¹ ·día ⁻¹	(Valle-Pérez et al., 2021) (In press)
Feruloil-esterasa	<i>Aspergillus niger</i>	FES	Salvado de avena y maíz	2.56 mU·mL ⁻¹ ·día ⁻¹	(Ou et al., 2011)
Peroxidasa	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	FES	Paja de trigo	2.21 U·mL ⁻¹ ·día ⁻¹	(Ayodeji et al., 2019)
Lacasa	<i>Trichoderma harzianum s</i>	FES	Salvado de trigo	6.3 U·mL ⁻¹ ·día ⁻¹	(Bagewadi, 2017)

TF: Tecnología fermentativa. FS: Fermentación sumergida. FES: Fermentación en estado sólido.

Tabla 6.3 Cocteles enzimáticos comerciales para la hidrólisis de biomasa lignocelulósica. Recuperado y modificado de Van Dyk y Pletschke (2012).

Proveedor	Coctél enzimático	Enzimas reportadas
	Celluclast 1.5 L FG	β -glucosidasas, xilanasas
Novozyme	Novozyme 188	Endoglucanasas β -glucosidasas, xilanasas, α -arabinofuranosidasas, β -xilosidasas α -galactosidasas, feruloil-esterasas
	Viscozyme	β -glucanasas
	Cellic CTec 1, 2, 3	Xilanasas, β -glucosidasas, β -xilosidasas, Celobiohidrolasa I
	Accelerase 1000	β -glucosidasas, xilanasas
Genecor	Spezyme CP	β -glucosidasas, xilanasas, α -arabinofuranosidasas, α -galactosidasas
	Multifect (pectinasa)	β -glucosidasas, xilanasas, α -arabinofuranosidasas, β -xilosidasas, α -galactosidasas, feruloil-esterasas

Hidrólisis enzimática de residuos lignocelulósicos

Para el aprovechamiento integral de los residuos agroindustriales, es necesario la hidrólisis de las matrices lignocelulósicas. La degradación de estos biopolímeros resulta aún ser un proceso complejo. El desarrollo de técnicas para la obtención de azúcares y biomoléculas por hidrólisis enzimática de residuos lignocelulósicos sigue siendo un desafío debido a 3 factores principales: la resistente estructura cristalina, la baja eficacia de las enzimas actualmente disponibles y a que se requieren prolongados tiempos de operación para alcanzar óptimos rendimientos de producción.

A continuación, se describen algunos parámetros que intervienen directamente en el rendimiento de la hidrólisis enzimática.

Eficiencia del pretratamiento

Como se mencionó anteriormente, el principal objetivo del pretratamiento es permitir la accesibilidad de las enzimas durante la sacarificación. Algunos de los factores que contribuyen a la recalcitrancia de la biomasa incluyen: cristalinidad y grado de polimerización de la celulosa, área de superficie accesible (o porosidad), protección de la celulosa por lignina, revestimiento de celulosa por hemicelulosa, tamaño y fuerza de la fibra, entre otras (Baruah et al., 2018). También es preciso efectuar un análisis del material pretratado previo a la hidrólisis enzimática, este incluye: cuantificación de los carbohidratos y oligómeros presentes tanto en la fracción líquida como en el material sólido, determinación de compuestos inhibitorios existentes, para evaluar si es necesario un proceso de lavado o detoxificación previo de la biomasa y valorizar la presencia de algunos coproductos de valor agregado que sean susceptibles a ser recuperados (Agbor et al., 2011).

Carga de sólidos

Otra de las principales desventajas en la hidrólisis enzimática es la limitada carga de sólidos o proporción sólido-líquido a la cual se efectúa la operación. La sacarificación a altas cargas de sólidos insolubles ($\geq 10\%$ p/v) presenta diversas dificultades, como la restringida cantidad de agua libre en el sistema para la actividad de las enzimas. En esta condición, la suspensión de material fibroso tiene una alta viscosidad aparente, que da como resultado, un ineficiente mezclado, traduciéndose a limitaciones de transferencia de masa y calor, reduciendo la eficiencia de las enzimas durante las primeras etapas de hidrólisis, conocida como etapa de licuefacción. Este fenómeno se ve reflejado en las altas demandas energéticas del reactor o dispositivo en donde se efectúa la sacarificación (Da Silva et al., 2020; Modenbach y Nokes, 2013).

Algunas estrategias para minimizar los efectos de las altas cargas de sólidos han sido el empleo de surfactantes como Tween 20 y 80 y polietilenglicol (PEG), los cuales previene la desactivación de las celulasas por efecto de las interfaces líquido-aire, al igual que evitan la adsorción de estas en las matrices de lignina (Bhagia et al., 2018). El operar bajo un régimen de lote alimentado con dosis de enzimas proporcionales a las cargas, de igual forma logra mantener bajas viscosidades (Sugiharto et al., 2016), y así procurar una buena transferencia de calor y masa.

Aunado a esto, el diseño de impulsores y reactores con una disposición horizontal han demostrado tener efectos positivos en los procesos de mezclado cuando se opera altas cargas de sólidos.

Efecto de la temperatura y pH

Las condiciones de reacción como la temperatura, el pH y la agitación son factores que influyen directamente en los rendimientos de la hidrólisis enzimática de la biomasa lignocelulósica. Las enzimas actúan de manera óptima a una temperatura y pH específicos. Estas condiciones de reacción deben optimizarse para lograr la eficiencia máxima de hidrólisis, en caso contrario, mayores concentraciones de enzima serán requeridas.

La mayoría de los estudios de hidrólisis enzimática se han realizado a 45-55° C, de igual manera, algunos proveedores de preparaciones enzimáticas recomiendan ese intervalo de temperatura para alcanzar rendimientos superiores al 90%. El pH durante la sacarificación es también un factor importante ya que regula la estructura tridimensional de los sitios activos de la enzima y la formación de complejo enzima-sustrato. Se han reportado valores de pH en hidrólisis en el rango de 4.0 a 5.0 para celulasas y xilanasas. (Yang et al., 2011).

Inhibición de enzimas

Durante los procesos de pretratamiento e hidrólisis enzimática, distintos compuestos pueden generarse, los cuales pueden poseer un efecto inhibitorio tanto para las enzimas hidrolasas, como para el microorganismo fermentativo.

Dentro de esta gama de compuestos inhibitorios se encuentran los derivados del furano (furfural y hidroximetilfurfural), ácidos orgánicos (ácido acético, fórmico y levulínico) y compuestos fenólicos como el ácido 4-hidroxibenzoico, tánico, gálico e hidroxicinámicos. Todo estos poseen un fuerte efecto inhibitorio para las enzimas celulasas (Kim et al., 2011).

Como se mencionó anteriormente, las enzimas celulasas y hemicelulasas presentes en los cocteles enzimáticos actúan de forma sinérgica al momento de hidrolizar las matrices lignocelulósicas. La sinergia enzimática se puede definir como la relación entre el rendimiento de hidrólisis cuando múltiples enzimas actúan en conjunto, entre los rendimientos de las enzimas por separado (López-Gutiérrez et al., 2020).

Este sinergismo puede ser contraproducente, ya que el producto de algunas de las enzimas puede inhibir la actividad de otras. La celobiosa actúa como inhibidor de las celulasas, mientras que la glucosa inhibe la acción de las β -glucosidasas, por lo tanto, una mayor cantidad de β -glucosidasas es necesaria para realizar la hidrólisis de la biomasa. Las endoxilanasas y β -xilosidasas son inhibidas por la xilosa y la xilobiosa. Además, algunos otros monómeros como la arabinosa, manosa y galactosa pueden inhibir directamente a las celulasas (Amit et al., 2018; Bhattacharya et al., 2015).

Generación de productos bajo el concepto de biorrefinería

La producción de nuevas fuentes de energía, biocombustibles, químicos orgánicos y polímeros a partir de la biomasa lignocelulósica, es uno de los principales retos hoy en día, dadas las nuevas políticas que intentan depender cada vez menos de los recursos fósiles. Diversos modelos económicos han sido propuestos para alcanzar dichos objetivos, uno de ellos es el concepto de biorrefinería, el cual busca desarrollar nuevos procesos y tecnologías que permitan un aprovechamiento integral de los residuos agroindustriales. Dentro de las diversas clasificaciones o plataformas de biorrefinería, la basada en obtención de carbohidratos fermentables (Maity, 2014) es de las más prometedoras y la investigación en torno a ella, va orientada en alternativas de pretratamiento, sistemas de hidrólisis enzimática y fermentación.

La Figura 6.4 muestra algunos de los productos comerciales que se pueden obtener de las fracciones de la lignocelulosa.

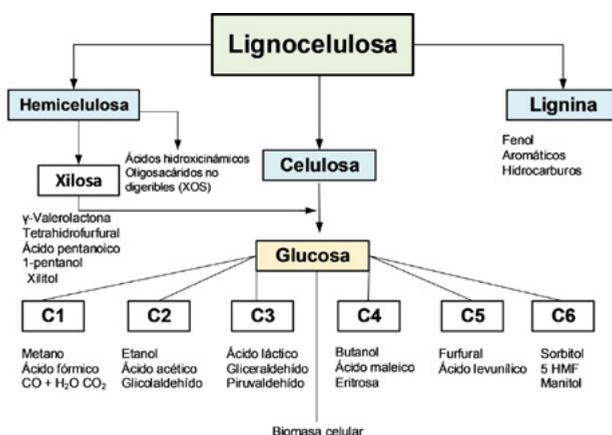


Figura 6.4 Clasificación de productos de valor añadido obtenidos de la celulosa, hemicelulosa y lignina. Recuperado y adaptado de Kohli et al. (2019).

A continuación, se describen algunos productos de valor agregado obtenidos para la revalorización de residuos agroindustriales empleando enzimas lignocelulósicas.

Biocombustibles

Los biocombustibles lignocelulósicos o de segunda generación, son definidos como aquellos energéticos generados a través del aprovechamiento de biomasa lignocelulósica. Han recibido un gran interés durante las últimas décadas, debido al rápido crecimiento de los precios de los combustibles fósiles, el agotamiento de estos, el deterioro ambiental y por consiguiente, una alteración en el clima global. Uno de los biocombustibles más importantes obtenidos a partir de biomasa lignocelulósica es el bioetanol. El bioetanol lignocelulósico o de segunda generación se produce mediante la fermentación alcohólica de los azúcares presentes en el hidrolizado enzimático usando microorganismos, principalmente levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* y *Kluyveromyces marxianus* (Sandoval-Nuñez et al., 2018).

Ácidos orgánicos

Recientemente, la producción de ácidos orgánicos multifuncionales por vía microbiana, a partir de hidrolizados de biomasa lignocelulósica, ha recibido interés debido a su mayor uso en la industria alimentaria y su potencial como materias primas para la generación de polímeros biodegradables. Ciertas especies de microorganismos producen cantidades significativas de ácidos orgánicos con altos rendimientos, en condiciones de cultivo específicas a partir de azúcares derivados de la biomasa (Bellasio et al., 2015). Los ácidos orgánicos se encuentran dentro de la categoría de químicos C2-C6 (2 a 6 átomos de carbono) y son sintetizados por diversos microorganismos, en los que destacan *A. niger* en la producción de ácido cítrico, *Actinobacillus succinogenes* para ácido succínico, *Lactobacillus* spp. para ácido láctico, *Acetobacter* spp. para ácido acético, por mencionar algunos (Becker et al., 2015; Zhao et al., 2019). La tabla 6.4 muestra algunos de los ácidos orgánicos de mayor importancia a nivel industrial y sus usos.

Tabla 6.4 Ácidos orgánicos de mayor producción y sus principales aplicaciones. Adaptada de Sauer et al. (2008).

Carbonos	Ácido orgánico	Usos
C2	Acético	Acetato de vinilo para polímeros, acetato de etilo como solvente verde
C2	Oxálico	Intermediario de síntesis, agente de limpieza
C3	3-hidroxipropiónico	Sustituto del ácido acrílico y producción de polímeros biodegradables
C3	Láctico	Aditivo y preservante de alimentos y bebidas, síntesis de polímeros
C3	Propiónico	Preservante de alimentos y bebidas
C4	Butírico	Desarrollo de aromas y fragancias
C4	Fumárico	Producción de resinas de poliéster
C4	Málico	Sustituto del anhídrido maleico
C4	Succínico	Sustituto del anhídrido maleico
C5	Levulínico	Potencial monómero para síntesis de biopolímeros
C6	Cítrico	Aditivo y preservante de alimentos y bebidas, antioxidante
C6	Glucónico	Aditivo de alimentos y bebidas, quelante de metales

Polifenoles: Ácidos hidroxicinámicos

Los polifenoles comprenden más de 8000 compuestos, divididos en ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, estilbenos, cumarinas, lignanos entre otros. Los ácidos fenólicos se pueden dividir en ácidos benzoicos (siete átomos de carbono; C6-C1) y ácidos cinámicos (nueve átomos de carbono; C6-C3). De estos últimos, los ácidos hidroxicinámicos son los de mayor abundancia en las paredes vegetales, específicamente unidos a las cadenas de hemicelulosa (Coman y Vodnar, 2019), resaltando el ácido cafeíco, *p*-cumárico, sinápico y ferúlico, y algunos derivados esterificados como el ácido clorogénico. Estos han ganado relevancia en últimas fechas debido a sus propiedades nutraceuticas, como lo son la alta actividad antioxidante, antiinflamatoria, antimicrobiana, anticancerígena y efectos neuroprotectivos (Sova, 2020).

Prebióticos

Los prebióticos se definen generalmente como polisacáridos y oligosacáridos no digeribles (OND) que promueven el crecimiento de bacterias benéficas presentes en el colon. Dentro de los múltiples OND que pueden obtenerse de fuentes lignocelulósicas a través de hidrólisis enzimática se encuentran los xilooligosacáridos (XOS), galactooligosacáridos (GOS), arabinooligosacáridos (AOS), mananooligosacáridos (MOS), celooligosacáridos (COS), oligosacáridos ácidos derivados de pectina, entre otros (Bhatia et al., 2019).

Los OND promueven el crecimiento de bacterias probióticas como las del género *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*, y que ejercen un fuerte antagonismo contra patógenos como *Salmonella sp.* o *Escherichia coli*, limitando su proliferación (Patel & Goyal, 2012), además de tener otros beneficios como la producción de ácidos grasos de cadena corta y disminución del pH intestinal, disminuyendo la incidencia de cáncer de colon (Drago, 2019).

Derivados de lignina

La lignina se encuentra comúnmente en las aguas residuales de la fabricación de papel y los desechos agrícolas y su aprovechamiento se ha limitado en aplicaciones de bajo valor como la combustión. Sin embargo, se han desarrollado diferentes tecnologías para la revalorización de la lignina, entre las que se encuentran la degradación catalítica para la obtención de derivados fenólicos y los tratamientos termoquímicos para la generación de material carbónico (Cao et al., 2018). Respecto a métodos biológicos, el hidrolizado de lignina ha sido utilizado como sustrato para la producción de biopolímeros como el polihidroxicanoato (PHA) y lípidos microbianos; y algunos compuestos más específicos como el ácido *p*-cumárico que ha sido empleado para la producción de ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido mucónico, ácido láctico, vainillina, piruvato, entre otros (Xu et al., 2019).

La tabla 6.5 resume algunos trabajos reportados para la producción de diferentes compuestos de interés comercial, mediante el pretratamiento y la hidrólisis enzimática de diversas fuentes lignocelulósicas.

Tabla 6.5 Reportes de producción de metabolitos empleando residuos lignocelulósicos.

Biomasa	Pretratamiento	Preparación enzimática	Metabolito	Microorganismo fermentativo	Referencia
Paja de <i>Miscanthus</i>	1) 80:20 glicerol:agua 2) 10% sólidos, 1-1.5% H ₂ SO ₄ , 160°C, 10 min	10% p/p Cellic® CTec2 5% p/p β-glucanasa 1% p/p Cellic® HTec 2 5% sólidos, 50°C, pH 5.4, 96 h	Ácido succínico	<i>Actinobacillus succinogenes</i>	(Dąbkowska et al., 2019)
Mazorca de maíz	5% sólidos, 0.1 N NaOH 25°C, 250 rpm, 2 h	0-1 %v/v Rapidase Pomaliq® 5% sólidos, 30°C, pH 5, 200 rpm, 48-144 h	Ácido cítrico	<i>Aspergillus niger</i>	(Hang y Woodams, 2001)
Pulpa de café	16.6% sólidos, 0.18 M H ₂ SO ₄ , 121°C, 30 min.	0.3 mL/g pulpa Accellerase 1500. 50°C, pH 5, 150 rpm, 24 h	Ácido láctico	<i>Bacillus coagulans</i>	(Pleissner et al., 2016)
Bagazo de caña	5% sólidos, 0.5 M NaOH, 80°C, 2h	a) 30 FPU/g Cellic® CTec 2 50°C, pH 5.2, 24 h b) 25 mg proteína/g celulosa Cellic® CTec 2 y 0.2 g peg 6000/g 50°C, pH 4.5, 24 h	Ácido láctico	<i>Bacillus coagulans</i>	(Nalawade et al., 2020)
Hojas de agave	1) 1% H ₂ SO ₄ , 121°C, 90 min 2) 3.4% NaOH, 121°C, 70 min	15-17 FPU/g celulosa Celluclast® 1.5L 2-5% celulosa, 50°C, pH 4.8, 150 rpm, 72 h	Etanol	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i>	(Láinez et al., 2019)
Paja de trigo y bagazo de caña	2% H ₂ SO ₄ , 1:10 sólido-líquido, 121°C, 15 min	1% v/v sólidos Cellic® CTec 2 y HTec2 50°C, pH 5.5, 350 rpm, 24 h	Etanol	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Kluyveromyces marxianus</i>	(Sandoval-Nuñez et al., 2018)
Paja de arroz y bagazo de caña	1.5% NaOH-0.2% H ₂ O ₂ , 5% sólidos, 120°C, 20 min	10% Accellerase® 1500 9% sólidos, 45°C, 72 h	Butanol	<i>Clostridium acetobutylicum</i>	(Tsai et al., 2020)
Desechos de alcachofa	Secado en frío y molienda (≤ 500 μm)	7.8 U/g sólidos Celluclast® 1.5L 50°C, pH 5, 200 rpm	Pectina	-	(Sabater et al., 2018)

Tabla 5. Continuación

Biomasa	Pretratamiento	Preparación enzimática	Metabolito	Microorganismo fermentativo	Referencia
Mazorca de maíz	Autohidrólisis no-isotérmica 1:8 sólido-líquido 205°C Fracción líquida: 0.5% H ₂ SO ₄ , 125°C, 165 min	6-24 FPU/g Cellic® CTec2 5-10% sólidos, 30°C, 200 rpm	Xilitol	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(Baptista et al., 2018)
Cáscara de cítricos	Secado en frío y molienda (≤ 1000 μm)	1.5% Cellulase® MX, Cellulase® CL, Kleease® AFP 2 g/16 mL enzima, 20-60°C, 3h	Compuestos fenólicos	-	(Li et al., 2006)
Cáscara de granada	Lavado y secado a condiciones ambiente Molienda (≤ 117 μm)	2.7-2.8% Acid-celulase®, Alcalase®, Pectinex®, Viscozyme® Kemzyme® 38-60°C, pH 4.3-6.7, 60-105 min	Compuestos fenólicos	-	(Mushtaq et al., 2015)
Cáscara de <i>Camellia oleifer</i>	12% NaOH 1:10 sólido-líquido, 120°C, 150 min	25 FPU/g celulosa Celluclast® 1.5 L 8 U/g celulosa β-glucosidasa (Novozyme 188) 10% sólidos, 50°C, pH 4.8, 150 rpm, 96 h	Etanol Vainilla XOS	<i>Pichia stipitis</i>	(Zhu et al., 2013)
Salvado de trigo	0.2 g/mL salvado de trigo en microondas 1400 W, 120 s	0.5% Bakezyme® BXP 5001 BG 10% sólidos, 55°C, 100 rpm, 24 h	XOS	-	(Wang y Lu, 2013)
Rastrojo de trigo y residuos de pino y álamo	1-4% H ₂ SO ₄ , 50% sólidos 164-192°C, 5-15 min	60 g/kg Cellic® CTec 2 10% sólidos, 50°C, pH 5, 180 rpm, 72 h	Furfural Glucosa	-	(Cornejo et al., 2019)
Paja de trigo	1% NaOH 1:10 sólido-líquido, 121°C, 30 min	37 FPU/g Celluclast® 1.5L 50 CBU/g β-glucosidasa (Novozyme 188) 50°C, pH 4.8, 150 rpm, 96 h	Polihidroxibutirato (PHB)	<i>Raistonia eutropha</i>	(Annamalai y Sivakumar, 2016)

Conclusiones

Los residuos lignocelulósicos son una fuente prometedora para la obtención de múltiples productos de interés comercial como biocombustibles, ácidos orgánicos, polímeros, moléculas bioactivas, entre otras. A su vez, su revalorización minimiza el impacto ambiental generado por las actividades económicas agroindustriales. Las enzimas lignocelulósicas son un factor clave para la revalorización de estos desechos, por ello, la prospección de nuevos microorganismos, enzimas y bioprocesos son unos de los objetivos que persigue la biotecnología, en aras de rentabilizar la comercialización de estos productos.

Referencias

1. Abdel-Hamid, A., Solbiati, J. O., & Cann, I. K. (2013). Insights into Lignin Degradation and its Potential Industrial Applications. *In Advances in Applied Microbiology* (Vol. 82, pp. 1–28). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407679-2.00001-6>
2. Agbor, V. B., Cicek, N., Sparling, R., Berlin, A., & Levin, D. B. (2011). Biomass pretreatment: Fundamentals toward application. *Biotechnology Advances*, 29(6), 675–685. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.005>
3. Amit, K., Nakachew, M., Yilka, B., & Mukesh, Y. (2018). A Review of Factors affecting Enzymatic Hydrolysis of Pretreated Lignocellulosic Biomass. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 22(7), 62–67.
4. Annamalai, N., & Sivakumar, N. (2016). Production of polyhydroxybutyrate from wheat bran hydrolysate using *Ralstonia eutropha* through microbial fermentation. *Journal of Biotechnology*, 237, 13–17. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.09.001>
5. Anson, N. M., Hemery, Y. M., Bast, A., & Haenen, G. R. M. M. (2012). Optimizing the bioactive potential of wheat bran by processing. *Food and Function*, 3(4), 362–375. <https://doi.org/10.1039/c2fo10241b>
6. Aparecida, P., Frassatto, C., Casciatori, F. P., Thoméo, J. C., Gomes, E., Boscolo, M., & Silva, R. (2020). β -Glucosidase production by *Trichoderma reesei* and *Thermoascus aurantiacus* by solid state cultivation and application of enzymatic cocktail for saccharification of sugarcane bagasse. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s13399-020-00608-1>
7. Bagewadi, Z. K. (2017). Optimization of laccase production and its application in delignification of biomass. *International Journal of Recycling*

- of *Organic Waste in Agriculture*, 6(4), 351–365. <https://doi.org/10.1007/s40093-017-0184-4>
8. Balan, V. (2014). Current Challenges in Commercially Producing Biofuels from Lignocellulosic Biomass. *ISRN Biotechnology*, 2014(i), 1–31. <https://doi.org/10.1155/2014/463074>
 9. Baptista, S. L., Cunha, J. T., Romani, A., & Domingues, L. (2018). Bioresource Technology Xylitol production from lignocellulosic whole slurry corn cob by engineered industrial *Saccharomyces cerevisiae* PE-2. *Bioresource Technology*, 267, 481–491. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.07.068>
 10. Baruah, J., Nath, B. K., Sharma, R., Kumar, S., Deka, R. C., Baruah, D. C., & Kalita, E. (2018). Recent trends in the pretreatment of lignocellulosic biomass for value-added products. *Frontiers in Energy Research*, 6, 1–19. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2018.00141>
 11. Becker, J., Lange, A., Fabarius, J., & Wittmann, C. (2015). Top value platform chemicals: bio-based production of organic acids. *Current Opinion in Biotechnology*, 36, 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.08.022>
 12. Bellasio, M., Mattanovich, D., Sauer, M., & Marx, H. (2015). Organic acids from lignocellulose: *Candida lignohabitans* as a new microbial cell factory. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 45(2), 681–691. <https://doi.org/10.1007/s10295-015-1590-0>
 13. Bhagia, S., Dhir, R., Kumar, R., & Wyman, C. E. (2018). Deactivation of Cellulase at the Air- Liquid Interface Is the Main Cause of Incomplete Cellulose Conversion at Low Enzyme Loadings. *Scientific Reports*, 8(1350), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19848-3>
 14. Bhatia, L., Sharma, A., Bachheti, R. K., & Chandel, A. K. (2019). Lignocellulose derived functional oligosaccharides: production, properties, and health benefits. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 0(0), 1–15. <https://doi.org/10.1080/10826068.2019.1608446>
 15. Bhattacharya, A., Bhattacharya, A., & Pletschke, B. (2015). Synergism of fungal and bacterial cellulases and hemicellulases: a novel perspective for enhanced bio-ethanol production. *Biotechnology Letters*, 37(6), 1117–1129. <https://doi.org/10.1007/s10529-015-1779-3>
 16. Bispo, A. S. R., Andrade, J. P., Souza, D. T., Teles, Z. N. S., & Nascimento, R. (2018). Utilization of agroindustrial by-products as substrate in endoglucanase production by *Streptomyces diastaticus* PA-01 under submerged fermentation. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 35(02), 429–440.
 17. Brodeur, G., Yau, E., Badal, K., Collier, J., Ramachandran, K. B., & Ramakrishnan, S. (2011). Chemical and physicochemical pretreatment of

- lignocellulosic biomass: A review. *Enzyme Research*, 2011(1). <https://doi.org/10.4061/2011/787532>
18. C. Bensah, E., & Y. Mensah, M. (2019). Emerging Physico-Chemical Methods for Biomass Pretreatment. In *Fuel Ethanol Production from Sugarcane*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.79649>
 19. Cao, L., Yu, I.K.M., Liu, Y., Ruan, X., Tsang, D.C.W., Hunt, A.J., Sik Ok, Y., Song, H., Zhang, S. (2018). Lignin valorization for renewable chemicals: State-of-the-art review and future prospects. *Bioresource Technology*, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121583>
 20. Chauhan, P. S. (2020). Role of various bacterial enzymes in complete depolymerization of lignin: A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23, 101498. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101498>
 21. Chen, H., & Qiu, W. (2010). Key technologies for bioethanol production from lignocellulose. *Biotechnology Advances*, 28(5), 556–562. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.05.005>
 22. Chen, S., Zhang, X., Singh, D., Yu, H., & Yang, X. (2010). Biological pretreatment of lignocellulosics: Potential, progress, and challenges. *Biofuels*, 1(1), 177–199. <https://doi.org/10.4155/bfs.09.13>
 23. Chukwuma, O. B., Rafatullah, M., Tajarudin, H. A., & Ismail, N. (2020). Lignocellulolytic Enzymes in Biotechnological and Industrial Processes: A Review. *Sustainability*, 12(18), 7282.
 24. Chundawat, S., Donohoe, B., Costa-Sousa, L., Elder, T., Agarwal, U., Lu, F., Ralph, J., Himmel, M., Balan, V. & Dale, B. (2011). Multi-scale visualization and characterization of lignocellulosic plant cell wall deconstruction during thermochemical pretreatment. *Energy and Environmental Science*, 4(3), 973–984. <https://doi.org/10.1039/c0ee00574f>
 25. Chylenski, P., Bissaro, B., Sørli, M., Røhr, Å. K., Várnai, A., Horn, S. J., & Eijsink, V. G. H. (2019). Lytic Polysaccharide Monooxygenases in Enzymatic Processing of Lignocellulosic Biomass. *ACS Catalysis*, 9(6), 4970–4991. <https://doi.org/10.1021/acscatal.9b00246>
 26. Coman, V., & Vodnar, D. C. (2019). Hydroxycinnamic acids and human health: recent advances. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(2), 483–499. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10010>
 27. Cornejo, A., Alegria-dallo, I., García-yoldi, Í., Sarobe, Í., Sánchez, D., Otazu, E., Martínez-merino, V. (2019). Pretreatment and enzymatic hydrolysis for the efficient production of glucose and furfural from wheat straw, pine, and poplar chips. *Bioresource Technology*, 288, 121583. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121583>

28. Da Silva, A. S., Pereira Espinheira, R., Sobral Teixeira, R. S., Fernandes de Souza, M., Ferreira-Leitão, V., & Bon P. S., E. (2020). Constraints and advances in high-solids enzymatic hydrolysis of lignocellulosic biomass: a critical review. *Biotechnology for Biofuels*, 13(58), 1–28.
29. Dąbkowska, K., Alvarado-Morales, M., Kuglarz, M., & Angelidaki, I. (2019). Miscanthus straw as substrate for biosuccinic acid production: Focusing on pretreatment and downstream processing. *Bioresource Technology*, 278, 82–91. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.051>
30. Dimarogona, M., Topakas, E., & Christakopoulos, P. (2012). Cellulose degradation by oxidative enzymes. *Computational and Structural Biotechnology*, 2(3), 1–8. <https://doi.org/10.5936/csbj.201209015>
31. Drago, L. (2019). Probiotics and Colon Cancer. *Microorganisms*, 7(66), 1–11. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7030066>
32. Duval, A., & Lawoko, M. (2014). Reactive & Functional Polymers A review on lignin-based polymeric, micro-, and nano-structured materials. *Reactive and Functional Polymers*, 85, 78–96. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2014.09.017>
33. Falade, A., Mabinya, L., Okoh, A., & Nwodo, U. (2019). Agrowastes utilization by *Raoultella ornithinolytica* for optimal extracellular peroxidase activity. *Biotechnol Appl Biochem*, 66(1), 60–67.
34. Hang, Y. D., & Woodams, E. E. (2001). Enzymatic enhancement of citric acid production by *Aspergillus niger* from corn cobs. *LWT - Food Science and Technology*, 34(7), 484–486. <https://doi.org/10.1006/food.2001.0784>
35. Harmsen, P., Bermudez, L., & Bakker, R. (2010). Literature Review of Physical and Chemical Pretreatment Processes for Lignocellulosic Biomass. *In Food & Biobased Research*.
36. Inoue, H., Kitao, C., Yano, S., & Sawayama, S. (2016). Production of β -xylosidase from *Trichoderma asperellum* KIF125 and its application in efficient hydrolysis of pretreated rice straw with fungal cellulase. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 3–11. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2145-x>
37. Jędrzejczyk, M., Soszka, E., Czapnik, M., Ruppert, A. M., & Grams, J. (2019). Physical and chemical pretreatment of lignocellulosic biomass. *In Second and Third Generation of Feedstocks: The Evolution of Biofuels* (pp. 143–196). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815162-4.00006-9>
38. Johansen, K. S. (2016). Lytic Polysaccharide Monooxygenases: The Microbial Power Tool for Lignocellulose Degradation. *Trends in Plant Science*, 21(11), 926–936. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.07.012>

39. Jung, Y. H., & Kim, K. H. (2015). Acidic Pretreatment. In *Pretreatment of Biomass: Processes and Technologies* (pp. 27–50). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800080-9.00003-7>
40. Juturu, V., & Chuan, J. (2014). Microbial cellulases: Engineering, production, and applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 33, 188–203. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.01.077>
41. Juturu, V., & Wu, J. C. (2012). Insight into microbial hemicellulases other than xylanases: a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 88(3), 353–363. <https://doi.org/10.1002/jctb.3969>
42. Juturu, V., & Wu, J. C. (2014). Microbial Exo-xylanases: A Mini Review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 174, 81–92. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1042-8>
43. Karimi, K., Shafiei, M., & Kumar, R. (2013). Progress in Physical and Chemical Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. In *Biofuel Technologies* (pp. 53–96). https://doi.org/10.1007/978-3-642-34519-7_3
44. Kennes, D., Abubackar, H. N., Diaz, M., Veiga, M. C., & Kennes, C. (2016). Bioethanol production from biomass: Carbohydrate vs syngas fermentation. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 91(2), 304–317. <https://doi.org/10.1002/jctb.4842>
45. Ketudat, J. R., & Asim, C. (2010). β -Glucosidases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2010(67), 3389–3405. <https://doi.org/10.1007/s00018-010-0399-2>
46. Khare, S. K., Pandey, A., & Larroche, C. (2015). Current perspectives in enzymatic saccharification of lignocellulosic biomass. *Biochemical Engineering Journal*, 102, 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2015.02.033>
47. Kim, Y., Ximenes, E., Mosier, N. S., & Ladisch, M. R. (2011). Enzyme and Microbial Technology Soluble inhibitors / deactivators of cellulase enzymes from lignocellulosic biomass. *Enzyme and Microbial Technology*, 48(4–5), 408–415. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2011.01.007>
48. Kohli, K., Prajapati, R., & Sharma, B. K. (2019). Bio-Based Chemicals from Renewable Biomass for integrated biorefineries. *Energies*, 12(233), 1–40. <https://doi.org/10.3390/en12020233>
49. Kucharska, K., Rybarczyk, P., Hołowacz, I., Łukajtis, R., Glinka, M., & Kamiński, M. (2018). Pretreatment of lignocellulosic materials as substrates for fermentation processes. *Molecules*, 23(11), 1–32. <https://doi.org/10.3390/molecules23112937>
50. Kumari, D., & Singh, R. (2018). Pretreatment of lignocellulosic wastes for biofuel production: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90(Julio), 877–891. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.111>

51. Láinez, M., Ruiz, H. A., Arellano-Plaza, M., & Martínez-Hernández, S. (2019). Bioethanol production from enzymatic hydrolysates of *Agave salmiana* leaves comparing *S. cerevisiae* and *K. marxianus*. *Renewable Energy*, 138, 1127–1133. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.02.058>
52. Laurent, C. V. F. P., Breslmayr, E., Tunega, D., Ludwig, R., & Oostenbrink, C. (2019). Interaction between Cellobiose Dehydrogenase and Lytic Polysaccharide Monooxygenase. *Biochemistry*, 58, 1226–1235. <https://doi.org/10.1021/acs.biochem.8b01178>
53. Leite, P., Sousa, D., Fernandes, H., Ferreira, M., Costa, A. R., Filipe, Gonçalves, M., Peres, H., Belo, I. & Salgado, J. (2021). Recent advances in production of lignocellulolytic enzymes by solid-state fermentation of agro-industrial wastes. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 27, 100407. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2020.100407>
54. Li, B. B., Smith, B., & Hossain, M. (2006). Extraction of phenolics from citrus peels II. Enzyme-assisted extraction method. *Separation and Purification Technology*, 48, 189–196. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2005.07.019>
55. Lopes, A. M., Ferreira Filho, E. X., & Moreira, L. R. S. (2018). An update on enzymatic cocktails for lignocellulose breakdown. *Journal of Applied Microbiology*, 125(3), 632–645. <https://doi.org/10.1111/jam.13923>
56. López-Gutiérrez, I., Razo-Flores, E., Méndez-Acosta, H. O., Amaya-Delgado, L., & Alatriste-Mondragón, F. (2020). Optimization by response surface methodology of the enzymatic hydrolysis of non-pretreated agave bagasse with binary mixtures of commercial enzymatic preparations. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00698-x>
57. Mahmood, R. T., Asad, M. J., Mehboob, N., Mushtaq, M., Minhas, N. M., & Hadri, S. H. (2013). Production, Purification, and Characterization of Exoglucanase by *Aspergillus fumigatus*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2013(170), 895–908. <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0227-x>
58. Maity, S. K. (2014). Opportunities, recent trends and challenges of integrated biorefinery: Part I. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 43, 1427–1445. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.11.092>
59. Maki, M., Leung, K. T., & Qin, W. (2009). The prospects of cellulase-producing bacteria for the bioconversion of lignocellulosic biomass. *International Journal of Biological Sciences*, 5(5), 500–516. <https://doi.org/10.7150/ijbs.5.500>
60. Mansour, A. A., Arnaud, T., Lu-Chau, T. A., Fdz-Polanco, M., Moreira, M. T., & Rivero, J. A. C. (2016). Review of solid-state fermentation for lignocellulolytic enzyme production: challenges for environmental applications. *Reviews*

- in Environmental Science and Biotechnology*, 15(1), 31–46. <https://doi.org/10.1007/s11157-016-9389-7>
61. Modenbach, A. A., & Nokes, S. E. (2013). Enzymatic hydrolysis of biomass at high-solids loadings - A review. *Biomass and Bioenergy*, 56, 526–544. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.05.031>
 62. Mohanram S., Amat, D., Choudhary, J., Anju, A. & Nain, L. (2013). Novel perspectives for evolving enzyme cocktails for lignocellulose hydrolysis in biorefineries. *Sustain Chem Process*, 1(1), 1–15.
 63. Mushtaq, M., Sultana, B., Anwar, F., Adnan, A., & Rizvi, S. S. H. (2015). Enzyme-assisted supercritical fluid extraction of phenolic antioxidants from pomegranate peel. *Journal of Supercritical Fluids*, 104, 122–131. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.05.020>
 64. Naidu, D. S., Hlangothi, S. P., & John, M. J. (2018). Bio-based products from xylan: A review. *Carbohydrate Polymers*, 179, 28–41. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.064>
 65. Nalawade, K., Baral, P., Patil, S., Pundir, A., Kurmi, A. K., Konde, K., Agrawal, D. (2020). Evaluation of alternative strategies for generating fermentable sugars from high-solids alkali pretreated sugarcane bagasse and successive valorization to L (+) lactic acid. *Renewable Energy*, 157, 708–717. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.05.089>
 66. Nguyen, S. T. C., Freund, H. L., Kasanjian, J., & Berlemont, R. (2018). Function, distribution, and annotation of characterized cellulases, xylanases, and chitinases from CAZy. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(4), 1629–1637.
 67. Oh, Y. H., Eom, I. Y., Joo, J. C., Yu, J. H., Song, B. K., Lee, S. H., ... Park, S. J. (2015). Recent advances in development of biomass pretreatment technologies used in biorefinery for the production of bio-based fuels, chemicals, and polymers. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 32(10), 1945–1959. <https://doi.org/10.1007/s11814-015-0191-y>
 68. Ou, S., Zhang, J., Wang, Y., & Zhang, N. (2011). Production of Feruloyl Esterase from *Aspergillus niger* by Solid-State Fermentation on Different Carbon Sources. *Enzyme Research*, 2011, 1–4. <https://doi.org/10.4061/2011/848939>
 69. Pandey, A., Soccol, C. R., & Mitchell, D. (2000). New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products. *Process Biochemistry*, 35(10), 1153–1169. [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(00\)00152-7](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(00)00152-7)
 70. Patel, S., & Goyal, A. (2012). The current trends and future perspectives of prebiotics research: a review. *3 Biotech*, 2, 115–125. <https://doi.org/10.1007/s13205-012-0044-x>
 71. Pielhop, T., Amgarten, J., Von Rohr, P. R., & Studer, M. H. (2016). Steam

- explosion pretreatment of softwood: The effect of the explosive decompression on enzymatic digestibility. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0567-1>
72. Pleissner, D., Neu, A. K., Mehlmann, K., Schneider, R., Puerta-Quintero, G. I., & Venus, J. (2016). Fermentative lactic acid production from coffee pulp hydrolysate using *Bacillus coagulans* at laboratory and pilot scales. *Bioresource Technology*, 218, 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.06.078>
 73. Podkaminer, K. K., Guss, A. M., Trajano, H. L., Hogsett, D. A., & Lynd, L. R. (2012). Characterization of Xylan Utilization and Discovery of a New Endoxylanase in *Thermoanaerobacterium saccharolyticum* through Targeted Gene Deletions. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(23), 8441–8447. <https://doi.org/10.1128/AEM.02130-12>
 74. Pollegioni, L., Tonin, F., & Rosini, E. (2015). Lignin-degrading enzymes. *FEBS Journal*, 282(7), 1–24. <https://doi.org/10.1111/febs.13224>
 75. Rabinovich, M. L., Melnick, M. S., & Bolobova, A. V. (2002). The Structure and Mechanism of Action of Cellulolytic Enzymes. *Biochemistry (Moscow)*, 67(8), 850–871.
 76. Rocha-Meneses, L., Raud, M., Orupöld, K., & Kikas, T. (2017). Second-generation bioethanol production: A review of strategies for waste valorisation. *Agronomy Research*, 15(3), 830–847.
 77. Rodríguez-Couto, S., & Sanromán, M. A. (2005). Application of solid-state fermentation to ligninolytic enzyme production. *Biochemical Engineering Journal*, 22(3), 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2004.09.013>
 78. Sabater, C., Corzo, N., Olano, A., & Montilla, A. (2018). Enzymatic extraction of pectin from artichoke (*Cynara scolymus* L.) by-products using Celluclast®1.5L. *Carbohydrate Polymers*, 190, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.02.055>
 79. Saldarriaga-Hernández, S., Velasco-Ayala, C., Leal-Isla Flores, P., de Jesús Rostro-Alanis, M., Parra-Saldivar, R., Iqbal, H. M. N., & Carrillo-Nieves, D. (2020). Biotransformation of lignocellulosic biomass into industrially relevant products with the aid of fungi-derived lignocellulolytic enzymes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 161, 1099–1116. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.047>
 80. Sandoval-Nuñez, D., Arellano-Plaza, M., Gschaedler, A., Arrizon, J., & Amaya-Delgado, L. (2018). A comparative study of lignocellulosic ethanol productivities by *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 20(7), 1491–1499. <https://doi.org/10.1007/s10098-017-1470-6>

81. Santiago, A., & Neto, C. P. (2008). *Eucalyptus globulus* kraft process modifications: Effect on pulping and bleaching performance and papermaking properties of bleached pulps. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 83(9), 1298–1305. <https://doi.org/10.1002/jctb.1947>
82. Sauer, M., Porro, D., Mattanovich, D., & Branduardi, P. (2008). Microbial production of organic acids: expanding the markets. *Trends in Biotechnology*, 26(2), 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.11.006>
83. Shah, F., Ranawat, B., & Mishra, S. (2019). An approach toward cellulase production, bioconversion, and utilization. In *Advanced Bioprocessing for Alternative Fuels, Biobased Chemicals, and Bioproducts: Technologies and Approaches for Scale-Up and Commercialization*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817941-3.00011-5>
84. Shahzadi, T., Anwar, Z., Iqbal, Z., Anjum, A., & Aqil, T. (2014). Induced Production of Exoglucanase, and β -Glucosidase from Fungal Co-Culture of. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2015(5), 426–433.
85. Shallom, D., & Ā, Y. S. (2003). Microbial hemicellulases. *Current Opinion in Microbiology*, 2003(6), 219–228. [https://doi.org/10.1016/S1369-5274\(03\)00056-0](https://doi.org/10.1016/S1369-5274(03)00056-0)
86. Sharma, H. K., Xu, C., & Qin, W. (2019). Biological Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuels and Bioproducts: An Overview. *Waste and Biomass Valorization*, 10(2), 235–251. <https://doi.org/10.1007/s12649-017-0059-y>
87. Sindhu, R., Binod, P., & Pandey, A. (2016). Biological pretreatment of lignocellulosic biomass - An overview. *Bioresource Technology*, 199, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.08.030>
88. Sova, M. (2020). Activities and Health Benefits of Hydroxycinnamic Acids and Their Metabolites. *Nutrients*, 12(8), 1–30.
89. 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. <https://doi.org/10.1080/10643380902945706>
90. Sugiharto, Y., Harimawan, A., Kresnowati, M., Purwadi, R., Mariyana, R., Andry, Fritriana, H. & Hosen, H. (2016). Enzyme feeding strategies for better fed-batch enzymatic hydrolysis of empty fruit bunch. *Bioresource Technology*, 207, 175–179. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.01.113>
91. Suhag, M. (2014). Key Technologies for the Production of Lignocellulolytic Enzymes. *Environment & We: An International Journal of Science & Technology*, 2014(9), 39–52.
92. Tsai, T., Lo, Y., Dong, C., Nagarajan, D., & Chang, J. (2020). Biobutanol production from lignocellulosic biomass using immobilized *Clostridium*

- acetobutylicum*. *Applied Energy*, 277(1), 115531. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2020.115531>
93. Tursi, A. (2019). A review on biomass: importance, chemistry, classification, and conversion. *Biofuel Research Journal*, 22(2019), 962–979. <https://doi.org/10.18331/BRJ2019.6.2.3>
 94. Valle-Pérez A., Flores-Cosío G., Amaya-Delgado L. (2021) Bioconversion of agave bagasse to produce cellulases and xylanases by *Penicillium citrinum* and *Aspergillus fumigatus* in solid-state fermentation. *Waste and Biomass Valorization* (In press 7 feb 2021, WAVE-D-20-01370)
 95. Van Dyk, J. S., & Pletschke, B. I. (2012). A review of lignocellulose bioconversion using enzymatic hydrolysis and synergistic cooperation between Enzymes-Factors affecting enzymes, conversion, and synergy. *Biotechnology Advances*, 30(6), 1458–1480. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2012.03.002>
 96. Wang, T., & Lu, S. (2013). Production of xylooligosaccharide from wheat bran by microwave assisted enzymatic hydrolysis. *Food Chemistry*, 138, 1531–1535. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.09.124>
 97. Xu, Z., Lei, P., Zhai, R., Wen, Z., & Jin, M. (2019). Biotechnology for Biofuels Recent advances in lignin valorization with bacterial cultures: microorganisms, metabolic pathways, and bio - products. *Biotechnology for Biofuels*, 1–19. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1376-0>
 98. Yan, J., Oyediji, O., Leal, J., Donohoe, B., Semelsberger, T., Li, C., Hoover, A., Webb, E., Bose, E., Zeng, Y., Williams, L., Schaller, K., Sun, N., Ray, A. & Tanjore, D. (2020). Characterizing variability in lignocellulosic biomass- A review. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(22), 1–63. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b06263>
 99. Yang, B., Dai, Z., Ding, S., & Wyman, C. E. (2011). Enzymatic hydrolysis of cellulosic biomass. *Biofuels*, 2(4), 421–449. <https://doi.org/doi.org/10.4155/bfs.11.116>
 100. Zhao, S.-F., Chi, Z., Liu, G.-L., Hu, Z., Wu, L.-F., & Chi, Z. M. (2019). Biosynthesis of some organic acids and lipids in industrially important microorganisms is promoted by pyruvate carboxylases. *Journal of Biosciences*, 44(47), 1–7. <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9853-y>
 101. Zhu, J., Zhu, Y., Jiang, F., Xu, Y., Ouyang, J., & Yu, S. (2013). An integrated process to produce ethanol, vanillin, and xylooligosaccharides from *Camellia oleifera* shell. *Carbohydrate Research*, 382, 52–57. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2013.10.007>

La salud como un derecho fundamental ante el COVID 2019 y futuras pandemias

Calderón García R^{1a}, Jiménez Torres J. A.²

¹ Centro Universitario de Ciencias Sociales y Humanidades de la Universidad de Guadalajara

² Departamento de Justicia y Derecho del Centro Universitario de la Ciénega de la Universidad de Guadalajara.

^a Autor de correspondencia: rocio.calderon@redudg.udg.mx

Palabras claves: COVID, pandemia, salud

Resumen

Los derechos de personas y comunidades están siendo afectados por el COVID 2019 lo que ha puesto de manifiesto realidades sociales y económicas que no se están atendiendo con defensa y protección eficaz de los derechos humanos. En este sentido la Corte Interamericana de los Derechos Humanos, se pronunció con algunas consideraciones en las que apela al Derecho internacional y a la cooperación entre gobiernos estableciendo que “El derecho a la salud debe garantizarse respetando la dignidad humana y observando los principios fundamentales de la bioética, de conformidad con los estándares interamericanos en cuanto a su disponibilidad, accesibilidad, aceptabilidad y calidad, adecuados a las circunstancias generadas por esta pandemia” (Corte Internacional de los Derechos Humanos, 2020). En este capítulo se analizarán estas repercusiones tanto en el quehacer de las instituciones, como en el ejercicio de algunos de sus derechos humanos por las personas. Se parte de una metodología cualitativa basada en el análisis de documentos internacionales y nacionales relacionados con los derechos humanos y el COVID 2019. Encontrando como principales hallazgos que la pandemia del COVID 19 ha puesto de manifiesto, por los cambios a la vida social y entorno de las personas, instituciones y gobiernos. La forma disruptiva en cómo se presentó este fenómeno, ha hecho visibles los aspectos a atender para las cuestiones económicas, de salud, laborales, escolares y personales, que deberán

adaptarse en un contexto de incertidumbre como el actual. Un reto será modificar los modos de realizar las actividades productivas, profesionales y personales, ante el riesgo de una afectación generalizada a la salud y al medio ambiente, que no afecten derechos y libertades de las personas.

Introducción

El año 2020 será recordado por las repercusiones a las organizaciones internacionales, a las economías de los países, a comunidades y a la vida de las personas, ocasionados por la pandemia del COVID 19. Las relaciones económicas, sociales, profesionales y jurídicas ya no serán igual a las que se tenían antes. Tanto los gobiernos, como las organizaciones e instituciones modificarán los esquemas de acción, para ajustarlas a circunstancias en las que la tecnología, el comportamiento social y económico, impactaron sensiblemente la forma de llevar la vida cotidiana.

En este capítulo se analizarán estas repercusiones tanto en el quehacer de las instituciones, como en el ejercicio de algunos de sus derechos humanos por las personas. La COVID 19, se empezó a estudiar como una enfermedad de las “emergentes está influenciada por numerosos factores como el cambio climático, los niveles de urbanización, número de viajes aéreos, condiciones socioeconómicas de cada población, entre otros factores” (Rodríguez Morales, et. Al., 2020:4).

En este escenario, el ejercicio de los derechos fundamentales se vio afectado. El aislamiento social decretado por la cuarentena impuesta como medida emergente por el gobierno, aunque tuvo sustento en la interrupción de la cadena de contagios, provocó efectos colaterales irreparables como: la pérdida de trabajo, semiparalización de la economía, el cierre de negocios e interrupción de los servicios de salud en hospitales públicos y acentuó el desabasto de medicamentos.

Como lo describe Varsi Rospigliosi et. al., (2020:2) “la repercusión de la covid-19 como hecho jurídico (involuntario) es enorme, sin precedentes ni proyecciones, impacta la teoría general de Derecho, abuso del derecho, del comportamiento leal, de la autonomía de la voluntad, de la buena fe; en la vida del hombre en su aspecto personal, en sus derechos, como la vida, libertad, salud, integridad, intimidad, actos de libre disposición del cuerpo humano, manejo de datos personales, datos sensibles, honor, identidad personal, uso de imagen y voz etc.”, esto en la experiencia cotidiana de las personas, lleva a un estado de incertidumbre. Se puede advertir

como los derechos fundamentales que se ven afectados con una pandemia como la del COVID 19, son: derecho a la salud, a la educación, al trabajo, al desarrollo de los derechos de personalidad (cultura, esparcimiento, arte), libertades como las de tránsito, reunión.

Su protección tiene marcos jurídicos internacionales y nacionales, que en el caso de México se tienen reconocidos en el artículo 1 y 133 de la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos.

En el caso del artículo 1, se establece el goce de los derechos fundamentales. Mientras que en el artículo 133 se describe la jerarquía de los Tratados internacionales en el derecho mexicano, lo que se traduce en la obligatoriedad de estas normas creadas en la comunidad internacional e incorporadas al sistema jurídico mexicano para ser observadas y acatadas por las autoridades.

Contexto teórico y contextual

Perspectiva internacional de las repercusiones

El contexto con el que comienza esta crisis sanitaria, como lo describe Provencio (2020:264) “el detonante fue el brote notificado a la Organización Mundial de la Salud (OMS) por China (31 de diciembre de 2019), la activación de los protocolos correspondientes y su consideración como epidemia y emergencia de salud pública de importancia internacional (del 1º al 30 de enero), y el reconocimiento (16-24 de febrero) de la gran virulencia, rápida transmisión y enorme potencial del nuevo patógeno para impactar globalmente la salud, la economía y la sociedad”.

Los efectos de la Pandemia del COVID 19, se verán reflejados en las relaciones de los estados y de las organizaciones internacionales. Hasta ahora, en el esquema de cooperación y diálogo institucional los asuntos de la agenda internacional permitían llegar a consensos en los cuales se establecían las estrategias a seguir. La dificultad de acordar acciones derivadas de dichos consensos, en algunos momentos generó tensión entre los países. Ahora, las condiciones se presentan con un tono de incertidumbre, pues organizaciones que tradicionalmente toman el liderazgo en los temas de interés para la comunidad internacional, han mantenido una postura de cautela ante la evolución de la enfermedad del SARS COV2. En este sentido, “la COVID-19 no solo acarrea costos humanos, deja también una secuela en los familiares de los contagiados, recuperados y fallecidos, que deberá ser evaluada y tenida en cuenta como una política de Estado” (Varsi Rospigliosi

et.al., 2020:4).

Como lo refiere Provencio (2020:265) “desde la perspectiva económica, la prioridad identificada de manera prácticamente generalizada en el mundo fue facilitar la adaptación de los sistemas de salud para atender la urgencia sanitaria, lo que involucraba a la política hacendaria, sobre todo, pero no únicamente, al presupuesto público”, situación que ha repercutido en una serie de restricciones al gasto corriente de los gobiernos.

La Organización de las Naciones Unidas

En el aniversario de sus 75 años de creación, esta organización enfrenta un reto muy importante para asumir el liderazgo en las acciones a seguir, para diseñar estrategias de colaboración y cooperación entre sus estados miembros, frente a los efectos de la COVID 19 en las relaciones políticas, económicas y comerciales de la comunidad internacional. Aunque sus propósitos son la promoción de la seguridad y paz mundiales, es la principal instancia de diálogo político y cooperación en el sistema de relaciones internacionales, y en este momento, la que puede orientar el rumbo que estas relaciones pueden seguir para dar certidumbre y estabilidad, a la política internacional entre los estados. Sin embargo, para ello deberá conciliar las diferencias entre algunas de las economías más poderosas del mundo, como lo son Estados Unidos y China, quienes han sostenido un pronunciado desencuentro respecto a la pandemia y sus consecuencias a la salud, comercio y economía. Por ello, el reto es mayúsculo e impostergable de atender. Debe aprovechar lo que señala Pellicer (2020: 3) “la mirada multidimensional que la inspira, a diferencia de los estudios provenientes de países avanzados, que no consideran lo que ocurre en regiones con diversos niveles de desarrollo”.

No obstante, lo anterior, la ONU además de conciliar las diferencias entre algunos de los estados más poderosos en la escena internacional, debe articular las acciones que algunos de los organismos especializados han instrumentado para contener el avance de los contagios, como es el caso de la Organización Mundial de la Salud y para otorgar apoyo a países que enfrentan una grave crisis financiera, como es el caso del Fondo Monetario Internacional.

Otro tema que considerar en esta agenda de asuntos a tratar por la ONU, es

apoyar de manera institucional los proyectos de investigación por desarrollar la vacuna contra esta enfermedad. Por el momento, este tema representa una competencia política por asumir prestigio y liderazgo internacional al país que logre desarrollarla para distribuirla entre las naciones. En ese sentido, debería estar presente la Organización Mundial de la Salud, para mediar entre los países en pro de la salud de la humanidad. Esta sería una manera de fortalecer el papel de la ONU en este contexto internacional complicado y a su vez, un camino a seguir para esta organización para recuperar su presencia y credibilidad entre las naciones. En relación con el papel de la OMS en esta crisis de salud, es contundente la descripción de Pellicer (2020:5) “la organización ha sido titubeante, frecuentemente confusa en sus directivas y, sobre todo, carente de autoridad para hacer obligatorias sus decisiones”, por eso lo imperioso de replantear una presencia de la ONU para asumir el liderazgo que le corresponde dentro de la comunidad internacional.

Una alternativa para corregir la escasa coordinación internacional entre países para resolver esta y futuras pandemias, es considerarlas como amenazas a la seguridad internacional de las naciones, actuar conforme al capítulo VII de la Carta de Naciones Unidas y determinar las medidas obligatorias que pueda dictar el Consejo de Seguridad para los países miembros de la organización, con la intención de combatir la pandemia y contener su propagación. Esto implica un reto mayor, porque conlleva modificar posturas y comportamientos difíciles de modificar en esta materia, entre los miembros permanentes de dicho Consejo.

Las acciones institucionales que deban realizarse en este contexto internacional, partirían de la premisa “los Estados requieren dar respuesta inmediata, rápida y eficaz, estas no pueden seguir las acciones tradicionales que se desarrollan en ambientes de equilibrio, por el contrario, demandan evolucionar, innovar, iniciar aperturas hacia nuevas formas de gestionar en contextos de incertidumbre” (Monasterio y Briceño,2020:102).

La Resolución 74/274

Esta resolución intitulada “Cooperación internacional para garantizar el acceso mundial a los medicamentos, vacunas y equipo médico para hacer frente al COVID-19” (ONU, 2020) de fecha 20 de Abril del 2020, establece entre otras medidas, una exhortación a los Estados Miembros y a otros interesados a que “adopten medidas inmediatamente para evitar, dentro de sus respectivos marcos

jurídicos, la especulación y la acumulación indebida que puedan obstaculizar el acceso a los medicamentos esenciales, las vacunas, el equipo de protección personal y el equipo médico inocuos, eficaces y asequibles que puedan ser necesarios para hacer frente eficazmente a la COVID-19", así como la financiación a proyectos para desarrollar la vacuna.

De igual manera, solicita al Secretario General de la ONU trabajar junto con la Organización Mundial de la Salud, para adoptar "las medidas necesarias para coordinar y seguir de manera eficaz los esfuerzos del sistema de las Naciones Unidas por promover y garantizar el acceso mundial a los medicamentos, las vacunas y el equipo médico necesarios" (ONU, 2020:2). Esta Resolución como lo señala Delgado (2020:11), "toma en consideración la amenaza que representa la pandemia para la salud humana, la seguridad y el bienestar, así como su rápida diseminación mundial con impactos múltiples que han causado graves trastornos sociales y económicos". Por eso la pertinencia de un trabajo coordinado hacia dentro, entre el Secretario de la ONU y los organismos encargados de atender estas materias dentro de la organización, así como continuar con la cooperación internacional, la solidaridad y los canales de comunicación política para fortalecer el trabajo multilateral que se ha estancado con los estados.

CEPAL (Comisión Económica para América Latina)

Para este organismo internacional la pandemia del COVID 19, refiere como uno de los efectos en las economías de los países la afectación de "gran parte de las actividades productivas, primero en Asia y posteriormente en Europa, América del Norte y el resto del mundo, y ha habido cierres generalizados de fronteras" (CEPAL, 2020:4). Aunque las medidas económicas que los gobiernos impulsaron, no se pudo contener el efecto negativo que se venía presentando en el consumo de bienes, por eso "la caída durante el primer semestre se habría situado en alrededor del 11%. Ello sugiere que la contracción del comercio mundial en 2020 se ubicaría más cerca del extremo "optimista" del rango que va del -13% (similar a la caída anual en 2009) al -32% proyectado en abril" (CEPAL: 2020:03). Aunado al consumo, el ramo de los servicios y el turismo también tuvo un impacto negativo, por consecuencia de las medidas de aislamiento social dictadas por los países para contener la propagación del virus.

El colapso de estos sectores ha llevado a reflexionar sobre la estrategia de recuperación que los gobiernos pueden seguir para salir lo más pronto posible de

esta crisis económica y comercial en la región. Una de las acciones recomendadas por este organismo, es la “regionalización de la producción, la integración regional debe desempeñar un papel clave en las estrategias de salida de la crisis en América Latina y el Caribe” (CEPAL,2020:22). Esta Comisión considera que, de lograr la integración de un mercado de 650 millones de personas, es una alternativa viable para superar los efectos adversos de esta pandemia en el tema comercial dentro de la región.

Otra de las opciones que se pueden impulsar por los gobiernos de los países de América, es la reducción de costos de logística y generar servicios de valor agregado, en particular para el caso de la infraestructura y la logística, “son cruciales cuatro elementos: inversión, interoperabilidad, integración regional e inteligencia logística” (CEPAL,2020:23). El reto para lograr esto, es atender la crisis de empleo, alimentaria y de salud, porque la reactivación económica involucra aspectos no sólo comerciales, sino también financieros. Estas repercusiones se irán atendiendo en la medida que se los países consideren la reconfiguración geopolítica del comercio y la integración económica. Las repercusiones de la pandemia deben ser vistos como un problema a resolver de manera conjunta, entre los estados y organizaciones, primero en el contexto de una cooperación internacional y segundo, con una estrategia que apueste por el multilateralismo, para adoptar medidas generales y obligatorias para todos los países. Por eso se insistía en la importancia de retomar el liderazgo de organizaciones como la ONU y sus órganos subsidiarios.

Entorno metodológico

Para el abordaje del presente estudio se partió de una metodología cualitativa utilizando la técnica del análisis bibliohemerográfico de documentos internacionales que tienen que ver con los derechos humanos y la salud ante la pandemia por el COVID 2019. Como categorías de análisis se consideraron:

- a) Los derechos humanos y grupos vulnerables
- b) El derecho a la salud y su atención
- c) Las comunidades indígenas ante el COVID 2019
- d) La perspectiva nacional de las repercusiones
- e) Las repercusiones económicas

Resultados y discusión

Los derechos humanos y grupos vulnerables

Los derechos de personas y comunidades están siendo afectados, se han puesto al descubierto realidades sociales y económicas que no se están atendiendo con defensa y protección eficaz de los derechos humanos.

La Corte Interamericana de los Derechos humanos, en este sentido se pronunció con algunas consideraciones en las que apela al Derecho internacional y a la cooperación entre gobiernos.

Por ejemplo, en el tema de la salud expresó “en estos momentos, especial énfasis adquiere garantizar de manera oportuna y apropiada los derechos a la vida y a la salud de todas las personas bajo la jurisdicción del Estado sin discriminación alguna, incluyendo a los adultos mayores, las personas migrantes, refugiadas y apátridas, y los miembros de las comunidades indígenas” (2020:2), destaca la relevancia de esto porque son grupos vulnerables en la sociedad, particularmente en México y por las medidas adoptadas en los Estados Unidos de América, para frenar la migración hacia su territorio en acciones que se emprendieron antes del reconocimiento mundial de esta pandemia.

Perspectiva nacional de las repercusiones

Como lo señala Caldera-Villalobos *et.al.* (2020:2) el COVID 19 en México, “llegó a un país que atravesaba una de sus transiciones político-económicas más importantes, donde los sistemas económicos y de salud se encontraban en medio de una reorganización, donde no estaba claro cómo funcionarían las diferentes agencias gubernamentales”, frente a un entorno internacional que atravesaba por un proceso de recesión económica y desconcierto a nivel mundial.

La crisis institucional en el sector salud que ha provocado esta pandemia, es grave, el personal del sector salud ha sido afectado no sólo en la salud sino también en su situación laboral. Desde el inicio de las medidas sanitarias dictadas por el gobierno federal, “el personal de salud mexicano en todo el país, de diferentes instituciones y niveles de atención, tuvo que enfrentar las primeras etapas de la pandemia sin el equipo de protección adecuado” (Caldera *et.al.*, 2020: 4). Por ello, como lo señala Varsi Rospigliosi *et al.* (2020:7) “el impacto de la pandemia de la covid-19

en realidades que tienen un sistema de salud precario, por ejemplo, plantea el dilema sobre las personas que recibirán atención cuando exista escasez de equipos de respiración”, de allí lo significativo del momento en el que se presentó esta emergencia sanitaria en México y lo complicado para las instituciones de salud, en dar una pronta y eficaz respuesta.

El derecho a la salud y su atención

En relación a la salud como derecho humano esencial, en estos momentos tanto para los pacientes, personas contagiadas, como para el personal de salud, la Corte Interamericana expresó: “el derecho a la salud debe garantizarse respetando la dignidad humana y observando los principios fundamentales de la bioética, de conformidad con los estándares interamericanos en cuanto a su disponibilidad, accesibilidad, aceptabilidad y calidad, adecuados a las circunstancias generadas por esta pandemia”(2020:2).

Cierto que el sistema de salud en México atraviesa por una transición institucional y la desaparición del seguro popular, han tenido consecuencias negativas para articular una política de estado que oriente su ejecución hacia esos estándares descritos por esta instancia internacional. Los efectos de esto son los más de 102,739 fallecidos (Secretaría de Salud, 2020) que por la metodología que se midan y cuantifiquen no revelan una estrategia eficaz para contener su incremento.

En estas condiciones “se evidencia la necesidad de mayor trabajo multidisciplinar para la prevención de enfermedades infecciosas, dado que existe una falta de infraestructura de salud para enfrentar desafíos de tales dimensiones” (Rodríguez Morales et. Al., 2020:5), porque ahora más que nunca, es pertinente revisar la política pública en salud, su efectividad institucional y su verdadero alcance de cobertura en la población.

En el derecho mexicano existe a nivel constitucional, el Consejo General de Salubridad y quien lo encabeza es el Secretario de Salud, según lo señala el artículo 15 de la Ley General de Salud, como lo describe Arteaga (2020:23) “si bien, por mandamiento constitucional, depende directamente del presidente de la República, es el secretario de Salud quien lo preside (artículo 15 de la Ley General de Salud) y quien posee la atribución para convocarlo (artículo 25 del Reglamento Interior del Consejo de Salubridad General)” lo que se ha visto durante este largo intervalo de tiempo en el que se ha prolongado el distanciamiento social y la determinación de

protocolos sanitarios, son declaraciones de estas autoridades en ruedas de prensa, sobre el comportamiento de la enfermedad y debates sobre el uso obligatorio o no del cubrebocas y la indecisión de aplicar pruebas en la población, para identificar personas asintomáticas con carga viral positiva.

No se ha puesto énfasis en una estrategia nacional eficiente, para controlar la propagación del virus y evitar más fallecimientos, por eso el llamado de la Organización Mundial de la Salud al puntualizar la mala situación de México frente a la emergencia sanitaria, dado que vio duplicar significativamente el número de casos y muertes desde mediados del mes de noviembre. Para esta organización internacional “la gente requiere comunicación muy clara, si lo que ven en un cartel y no lo cumplen las autoridades hay confusión” (Milenio, 2020:14), en alusión al ejemplo público del Presidente de la República y del Subsecretario de Salud. Sin embargo, analizado jurídicamente el entorno de la pandemia, es posible que “las omisiones del Poder Ejecutivo federal para combatir eficazmente la propagación del Covid-19 generan violaciones al derecho a la salud de las personas y representan un peligro de que éstas pierdan la vida” (Olvera Rangel, 2020:24), el acto reclamado serían las omisiones tanto del Presidente como del Secretario de Salud, para determinar las acciones necesarias en el combate y control de esta epidemia, las cuales en el caso del COVID 19 deberán estar justificadas en la evidencia científica y estar sustentadas en las recomendaciones de organismos internacionales como la Organización Mundial de la Salud. Existe una responsabilidad de estos funcionarios del poder ejecutivo federal, en razón de ser ellos quienes dictan los acuerdos y disposiciones administrativas de observancia general, y sobre todo, el salvaguardar el derecho de las personas a la salud como derecho humano.

Lo anterior no exime a las autoridades de los gobiernos de las entidades federativas en lo que sea de su competencia, ya que en todo caso como señala Olvera Rangel, 2020:26) “el amparo proceda en contra de omisiones, éstas deben violar derechos humanos reconocidos por la Constitución general o por los tratados internacionales de los que México es parte, o las garantías otorgadas para su protección”. En este sentido la normativa en materia de salud y las recomendaciones dictadas por la Corte Interamericana de los Derechos humanos, sustentan la procedencia de esta demanda debido al control de convencionalidad que existe en el derecho constitucional mexicano y reconocido en precedentes de la Suprema Corte de Justicia de la Nación.

Las comunidades indígenas

Otro de los efectos de esta situación, ha sido la dificultad de comunidades indígenas para acceder a internet, para recibir la educación a distancia. No sólo ha repercutido en el acceso a los servicios de salud, sino de continuar vía remota con la educación de niños y jóvenes de estas comunidades.

Según el Movimiento de Pueblos, Comunidades y Organizaciones Indígenas, Movimiento Nacional, México “el grado de letalidad por Covid-19 en México es de poco más del 10% en promedio, sin embargo, **en las comunidades indígenas éste es de cerca del 17.5%**, lo que revela la vulnerabilidad que tienen las comunidades tanto en las urbes como en sus lugares origen” (FORBES, 2020:1). La situación de vulnerabilidad de las comunidades indígenas es estructural y se acentuó más con esta pandemia, para Cortéz-Gómez et.al. (2020:1) “los pueblos indígenas experimentan el impacto de factores estructurales que determinan su afectación diferenciada, respecto a la población general, al COVID-19, pero también participan de dicha vulnerabilidad a partir de las inequidades existentes al interior de sus comunidades y reproducidas mediante prácticas culturales”. En el mes de Mayo del 2020, el Instituto Nacional de Pueblos Indígenas, publicó una guía de atención a estas comunidades ante la emergencia sanitaria, destaca de ese documento que **“la información relacionada con la epidemia deberá ser difundida y transmitida con pertinencia cultural y lingüística**; que las disposiciones y medidas adoptadas para hacer frente a la epidemia deben de implementarse con pertinencia cultural y respetando las formas de organización y especificidades culturales de las comunidades indígenas”(Instituto Nacional, 2020:4,5).

En dicho documento, también se dispone qué estrategia deberá seguirse para la recuperación económica de estas comunidades, al precisar que estas acciones se desarrollarán “desde una perspectiva de sustentabilidad, incluyendo programas de transferencias monetarias para proyectos comunitarios de autosuficiencia alimentaria, de producción primaria y de transformación para la generación de cadenas de valor” (Instituto Nacional,2020:7), la finalidad es que los distintos sectores económicos que participan estas cadenas de valor también incluyan el sector turístico para impulsar las zonas afectadas por la emergencia sanitaria. No obstante, esto, la situación de acceso a la salud en las comunidades indígenas ha sido de una notoria dificultad, como lo refiere Cortéz-Gómez et. al. “en el caso de la población indígena tiene las características de realizarse en el contexto de exclusión al sistema educativo, al mercado laboral y a un sistema de salud

adecuado, lo cual determina los tipos de trabajo que realizan, sus condiciones de residencia, su salud o sus estilos de vida” (2020:8). Este escenario representa en el contexto de la evolución de la epidemia en México, una oportunidad para rediseñar las políticas de salud, de desarrollo comunitario e inclusión social para atender de una manera integral la problemática ancestral de estas comunidades en las distintas regiones del país.

Perspectiva nacional de las repercusiones

Como lo señala Caldera-Villalobos *et.al.* (2020:2) el COVID 19 en México, “llegó a un país que atravesaba una de sus transiciones político-económicas más importantes, donde los sistemas económicos y de salud se encontraban en medio de una reorganización, donde no estaba claro cómo funcionarían las diferentes agencias gubernamentales”, frente a un entorno internacional que atravesaba por un proceso de recesión económica y desconcierto a nivel mundial.

La crisis institucional en el sector salud que ha provocado esta pandemia, es grave, el personal del sector salud ha sido afectado no sólo en la salud sino también en su situación laboral. Desde el inicio de las medidas sanitarias dictadas por el gobierno federal, “el personal de salud mexicano en todo el país, de diferentes instituciones y niveles de atención, tuvo que enfrentar las primeras etapas de la pandemia sin el equipo de protección adecuado” (Caldera *et.al.*, 2020: 4). Por ello, como lo señala Varsi Rospigliosi *et al.* (2020:7) “el impacto de la pandemia de la covid-19 en realidades que tienen un sistema de salud precario, por ejemplo, plantea el dilema sobre las personas que recibirán atención cuando exista escasez de equipos de respiración”, de allí lo significativo del momento en el que se presentó esta emergencia sanitaria en México y lo complicado para las instituciones de salud, en dar una pronta y eficaz respuesta.

Las repercusiones económicas

En el tema económico, esta pandemia también ha provocado serias repercusiones a la economía mexicana, como lo señala Provencio (2020:265) “la disrupción general provocada por la pandemia, y la crisis económica como parte de ella, es inédita en este sentido, al menos en los últimos cien años”. Por lo inesperado del evento a nivel internacional y por efecto de la globalidad de los mercados, la crisis sanitaria ha repercutido en todos los países y ha tenido como denominador común la incertidumbre para proyectar una pronta reactivación. En este sentido,

la implementación de medidas como la cuarentena y suspensión de actividades no esenciales, pueden ser una alternativa emergente para frenar la propagación del virus, reducir los contagios, sin embargo, al mediano plazo ha tenido repercusiones negativas a la economía y comercio, como lo señalan Clavelina y Domínguez(2020:2)“ocasionan la reducción del comercio internacional, interrupciones en las cadenas de suministro, menor productividad, contracción de la actividad económica, menor inversión, cierre de negocios y pérdida de empleos”, esto en conjunto propicia una crisis que requiere acciones estratégicas del gobierno, para superar este entorno adverso.

Algunas de las acciones implementadas por los bancos centrales, han sido reducir las tasas de interés, para favorecer el financiamiento y liquidez que reduzca la tensión de pagos para los créditos, así como en materia fiscal, la reducción de pago de impuestos para desahogar las consecuencias del desempleo. No todas estas medidas han sido generales, ni apoyadas por paquetes de rescate económico y apoyo a la reactivación económica en todos los países. Para el caso de México, no se optó por el endeudamiento en las finanzas del gobierno, debido a la fragilidad de la estructura recaudatoria que se tiene, entonces como lo apuntan Clavelina y Domínguez (2020:5) “los ingresos públicos dependen de forma importante de las exportaciones de materias primas, el turismo y las remesas; ingresos que tenderán a decrecer, dejando a estas economías con menores recursos en un momento en el que la mayor incertidumbre está haciendo que los inversionistas lleven sus capitales a lugares más seguros”, esto limita los márgenes de maniobra para proponer un esquema de recuperación económica.

El gobierno federal planteó un paquete de rescate económico, el cual en opinión de Provencio (2020:276) “la pertinencia de la estrategia económica que se adoptó en México debe ser reevaluada a la luz de los nuevos aprendizajes, en particular ante las perspectivas de la pobreza, el empleo y la recuperación”, por los factores ya señalados del sector exportador, turístico, comercial e industrial así como las decisiones de inversionistas sobre el destino de sus recursos en el contexto de incertidumbre. En conclusión, para la economía mexicana “utilizando las proyecciones de diversas instituciones y organismos con respecto al crecimiento en México en 2020, se hace una estimación de la reducción de los ingresos presupuestarios resultado de un menor crecimiento económico, y sus repercusiones en el balance económico” (Clavelina y Domínguez, 2020:7).

No obstante lo anterior, la OCDE en su más reciente balance de perspectivas económicas 2020 estima que la caída del PIB (Producto Interno Bruto), “será de 9.2 y no de 10.2 como los pronosticó en septiembre; para 2021, revisó al alza su previsión de crecimiento del PIB de 3 a 3.6 por ciento y para 2022 a 3.4 por ciento”(Milenio:2020, 19), lo cual significa una posibilidad de mejora a la economía mexicana, dependerá de otras medidas financieras, comerciales y de gasto social que se articulen para acercarse al escenario estimado por esta organización internacional.

Conclusiones

En este capítulo se abordaron cuestiones que la pandemia del COVID 19 ha puesto de manifiesto, por los cambios a la vida social y entorno de las personas, instituciones y gobiernos. La forma disruptiva en cómo se presentó este fenómeno, ha hecho visibles los aspectos a atender para las cuestiones económicas, de salud, laborales, escolares y personales, que deberán adaptarse en un contexto de incertidumbre como el actual. Un reto será modificar los modos de realizar las actividades productivas, profesionales y personales, ante el riesgo de una afectación generalizada a la salud y al medio ambiente, que no afecten derechos y libertades de las personas.

Consecuencia de medidas como el distanciamiento social, en el tema económico la reflexión es qué alternativas se pueden implementar para no afectar tan severamente el ramo de la industria, comercio, servicios, turismo y consumo, como los motores de la economía de los países. La cadena de producción y distribución de los satisfactores, como se ha visto, puede paralizar el desarrollo de las sociedades, así como provocar el deterioro de la calidad de vida de las personas.

Por eso, el papel de las organizaciones internacionales será primordial para asumir el liderazgo que deben tener en la promoción de la cooperación internacional, con el fin de homologar estrategias y acciones a seguir, por los gobiernos de los países en el mundo.

En el rubro de la salud, la enseñanza que deja la historia de las pandemias y epidemias es el manejo eficiente de estas, con políticas públicas orientadas a la prevención, contención y control de este tipo de enfermedades virales, que por su característica son altamente transmisibles los contagios y, por ende, la dificultad

de evitarlos. La información veraz a la población, el financiamiento a proyectos de investigación científica y el contar con la infraestructura financiera y material de atención hospitalaria al servicio de todos los grupos de la sociedad, son un reto para resolver para estar en condiciones de actuar con eficacia y oportunidad, ante eventuales brotes de este tipo de enfermedades respiratorias y la producción de vacunas.

La compleja situación que esta pandemia ha dejado para el tema educativo pasa por cuestiones como la pedagogía en ambientes virtuales, el diseño de contenidos y materiales educativos con apoyo en las TICs, hasta cuestiones que tienen relación con el aprovechamiento y la deserción escolar. El reto es mayúsculo pues no se trata nada más de implementar un modelo instruccional híbrido, sino de evaluar el impacto de éste, en las expectativas de estudiantes y profesores, porque a final de cuentas, el aprendizaje es lo más importante en una sociedad del conocimiento de la que parte esta experiencia educativa a distancia.

Referencias

1. Artega Nava, Elisur (2020). ¿Existe el Consejo General de Salubridad?, Revista el Mundo del Abogado, Abril, 2020, México, p.22-23, ElMundoDelAbogado_252_2020_Abril.pdf
2. Caldera-Villalobos C, Garza-Veloz I, Martínez-Ávila N, Delgado-Enciso I, Ortiz-Castro Y, Cabral-Pacheco GA, Martinez-Fierro ML. *"The Coronavirus Disease (COVID-19) Challenge in Mexico: A Critical and Forced Reflection as Individuals and Society"*. Front Public Health. 2020 Jun 26; 8:337. doi:10.3389/fpubh.2020.00337. PMID: 32671012; PMCID: PMC7332544, disponible: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7332544/>
3. CEPAL (2020). *"Los efectos del COVID-19 en el comercio internacional y la logística"*, informe especial, Agosto del 2020, Disponible: https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/45877/S2000497_es.pdf?sequence=1
4. Clavellina Miller, José Luis y Domínguez Rivas, Mario Iván (2020). *"Implicaciones económicas de la pandemia por COVID 19 y opciones de política"*, Instituto Belisario Domínguez, No.81, notas estratégicas, abril del 2020, Senado de la República, Disponible: <http://www.bibliodigitalibd.senado.gob.mx/handle/123456789/4829>
5. Corte Interamericana de los Derechos Humanos (2020). *"COVID-19 y*

- Derechos Humanos: los problemas y desafíos deben ser abordados con perspectiva de derechos humanos y respetando obligaciones internacionales*”, Declaración 14 de Abril del 2020, Disponible: <https://www.corteidh.or.cr/tablas/alerta/comunicado/cp-27-2020.html>
6. Cortéz-Gómez, Renata, Muñoz-Martínez, Rubén y Ponce-Jiménez, Patricia (2020). “Vulnerabilidad estructural de los pueblos indígenas ante el COVID-19”, Boletín salud pública Vol. 1, n° 7-8, 3 de agosto de 2020, disponible: https://www.researchgate.net/profile/Ruben_Munoz_Martinez/publication/343403302_Vulnerabilidad_estructural_de_los_pueblos_indigenas_ante_el_COVID-19/links/5f286122a6fdcccc43a881fb/Vulnerabilidad-estructural-de-los-pueblos-indigenas-ante-el-COVID-19.pdf
 7. Delgado, Martha (2020). “La apuesta de México por la ONU en su 75 aniversario”, Foreign Affairs, Vol.20, No.4, 15 de Octubre a 15 de Diciembre del 2020, México.
 8. Economipedia (2020). “Coworking”, Disponible: <https://economipedia.com/definiciones/coworking.html>
 9. FORBES (2020). “Las comunidades indígenas presentan mayor letalidad por COVID 19, en México”, Disponible: <https://www.forbes.com.mx/actualidad-las-comunidades-indigenas-presentan-mayor-letalidad-por-covid-19-en-mexico/>
 10. Gutiérrez Alanís, María Teresa y Sánchez Miguel, Martha (2020). “Formas emergentes de trabajo y derechos laborales”, Revista el Mundo del abogado, edición Diciembre, p.6-11, México.
 11. Instituto Nacional de los Pueblos Indígenas (2020). Guía para la atención de pueblos y comunidades indígenas y afroamericanas, Disponible: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/551398/guia-atencion-pueblos-indigenas-afromexicano-covid19.pdf>
 12. MILENIO (2020). “OCDE ve mejor futuro económico en México”, Rodríguez, Silvia, Negocios, p.19, edición 1 de diciembre.
 13. _____. “Llama OMS a México a tomar “muy en serio” la pandemia”, Martínez, A. y Ríos, C., México.
 14. Monasterio, D., & Briceño, M. (2020). “Educación mediada por las tecnologías: un desafío ante la coyuntura del Covid-19”. Observador Del Conocimiento, 5(1), 100-108. Disponible: http://www.oncti.gob.ve/ojs/index.php/rev_ODC/article/view/132
 15. OIT Organización Internacional del Trabajo (2020). “GUIA. El teletrabajo durante la pandemia de COVID-19 y después de ella”, disponible en <https://>

- www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/---ed_protect/---protrav/---travail/documents/publication/wcms_758007.pdf
16. Olvera Rangel, Sergio Charbel (2020). "*Los efectos del COVID 19 se combaten con el Juicio de Amparo*", Revista el Mundo del abogado, Abril 2020, p.24-26, México, ElMundoDelAbogado_252_2020_Abril.pdf
 17. ONU (2020). Organización de las Naciones Unidas, Resolución 74/274, "*Cooperación internacional para garantizar el acceso mundial a los medicamentos, las vacunas y el equipo médico con los que hacer frente a la COVID-19*", disponible: <https://undocs.org/es/A/RES/74/274>.
 18. Ordorica, Imanol (2020). "*Pandemia y educación superior*", Revista de la educación superior 194, Vol. 49, ANUIES, disponible: <file:///C:/Users/HP/Downloads/1120-Archivo%20del%20manuscrito-2369-2-10-20200707.pdf>
 19. Pastor Angulo, Martín (2005). "*Educación a distancia en el siglo XXI*". Apertura, 5 (2), 60-75. [Fecha de Consulta 8 de Diciembre de 2020]. ISSN: 1665-6180. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=688/68800206>
 20. Pedró, Francese (2020). "*COVID-19 y educación superior en América Latina y el Caribe: efectos, impactos y recomendaciones políticas*", Análisis Carolina 36/20, Disponible: [Dialnet-Covid19YEducacionSuperiorEnAmericaLatinaYElCaribe-7642921%20\(1\).pdf](Dialnet-Covid19YEducacionSuperiorEnAmericaLatinaYElCaribe-7642921%20(1).pdf)
 21. Pellicer, Olga (2020). "*La ONU: el aniversario y la pandemia*", Foreign Affairs, Vol.20, No.4, 15 de Octubre a 15 de Diciembre del 2020, México.
 22. Provencio, Enrique (2020). "*Política económica y Covid-19 en México en 2020*", revista economía UNAM, SSN 1665-952X, ISSN-e 2448-8143, N.º. 51, 2020 (Ejemplar dedicado a: El COVID-19 en México y el mundo), págs. 263-281, Septiembre-Diciembre del 2020, disponible: <http://revistaeconomia.unam.mx/index.php/ecu/article/view/563/595>
 23. Rodríguez-Morales, Alfonso J, Sánchez-Duque, Jorge A, Hernández Botero, Sebastian, Pérez-Díaz, Carlos E, Villamil-Gómez, Wilmer E, Méndez, Claudio A, Verbanaz, Sergio, Cimerman, Sergio, Rodriguez-Enciso, Hernan D, Escalera-Antezana, Juan Pablo, Balbin-Ramon, Graciela J, Arteaga-Livias, Kovy, Cvetkovic-Vega, Aleksandar, Orduna, Tomas, Savio-Larrea, Eduardo, & Paniz-Mondolfi, Alberto. (2020). "*Preparación y control de la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) en América Latina*". Acta Médica Peruana, 37(1), 3-7. Disponible: <https://dx.doi.org/10.35663/amp.2020.371.909>
 24. Secretaria de Salud (2020). Reporte COVID 19, versión 24 de Noviembre, Disponible: <https://coronavirus.gob.mx/>
 25. UNESCO (2015). "*Documento de posición sobre la educación después del 2015*", disponible: <file:///C:/Users/HP/Downloads/Dialnet-DocumentoDeP>

osicionSobreLaEducacionDespuesDe2015Or-6224819.pdf

26. Varsi Rospigliosi, Enrique, Rosensvald, Nelson, & Torres Maldonado, Marco Andrei. (2020). *“La pandemia de la covid-19, la fuerza mayor y la alteración de las circunstancias en materia contractual. Acta bioethica, 26(1), 29-36.* Disponible: <https://dx.doi.org/10.4067/S1726-569X2020000100029>

Efecto de la administración de lípidos dietarios sobre el síndrome metabólico en modelos murinos

Oliart Ros R. M^{1a}, Herrera Meza S², Sánchez Otero M. G. ³, Reyes Saldaña K. R. ⁴,
Ramírez Higuera A.⁵

¹Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Veracruz

² Instituto de Investigaciones Psicológicas en la Universidad Veracruzana

³ Facultad de Bioanálisis de la Universidad Veracruzana

⁴ Doctorado en Ciencias en Alimentos en el Instituto Tecnológico de Veracruz

⁵ Cátedra CONACYT adscrita al Tecnológico Nacional de México/ Instituto Tecnológico de Veracruz, responsable del Laboratorio de Bioquímica de la Nutrición-UNIDA

^a Autor de correspondencia: roliart@itver.edu.mx /rosa.or@veracruz.tecnm.mx

Palabras claves: síndrome metabólico (SMet), lípidos dietarios, omega-3, estercúlico, grasa butírica anhidra

Resumen

El SMet es actualmente uno de los problemas de salud pública más importantes en el mundo. Está relacionado con el estilo de vida, por lo que para su prevención y tratamiento se han recomendado dietas que contengan ciertos ácidos grasos, ya que algunos pueden aumentar y otros pueden disminuir el riesgo de desarrollar SMet y sus enfermedades asociadas. En el presente trabajo se utilizaron tres modelos murinos de síndrome metabólico: uno inducido por la administración de sacarosa al 30%, las ratas hipertensas espontáneas (SHR) y las ratas Zucker. En ellos se demostraron efectos benéficos de la ingesta de aceite de pescado (disminución de presión arterial, insulina, triglicéridos, LDL, HDL, colesterol, y ácidos grasos libres, expresión del gen fat/cd36); de aceite de coco (disminución de la presión arterial, insulina y triglicéridos); de grasa butírica anhidra enriquecida en CLA y VA (disminución de colesterol, triglicéridos, HDL, insulina, adiponectina, y mejoramiento de la sensibilidad a insulina (HOMA-IR); aceite estercúlico (disminución del peso corporal, presión arterial, adiposidad, triglicéridos, HDL, y adiponectina, expresión de gen de leptina y PPARg).

Introducción

En las últimas décadas, el incremento en la esperanza de vida y el aumento en el consumo de alimentos ricos en grasas saturadas y azúcares añadidos ha provocado la aparición de una serie de alteraciones metabólicas agrupadas en el término Síndrome Metabólico (SMet). Se define como la combinación de tres o más factores fisiológicos, bioquímicos, clínicos y metabólicos, que están interconectados y que se asocian con un incremento en el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus tipo 2, así como disfunciones renales y hepáticas. Las principales manifestaciones del SMet son resistencia a la insulina, obesidad abdominal, hipertensión, dislipidemia aterogénica (niveles sanguíneos elevados de triglicéridos y de LDL-colesterol, y bajos niveles de HDL-colesterol), altas concentraciones séricas de glucosa en ayuno, disfunción endotelial, un estado de hipercoagulación, de estrés oxidativo y de metainflamación; estas manifestaciones aparecen, con variaciones fenotípicas, en personas con una predisposición endógena determinada genéticamente y condicionada por factores ambientales, tales como una vida sedentaria y una alta ingesta calórica (Kaur, 2014; Grundy, 2016). En 1998 la Organización Mundial de la Salud definió al síndrome metabólico como la combinación de tres o más componentes diferentes: obesidad abdominal (definida como una circunferencia de cintura mayor a 94 cm en los hombres y 80 cm en las mujeres), concentraciones elevadas de triglicéridos (>1.7 mmol/L), bajas concentraciones de HDL colesterol (<0.9 mmol/L en hombres y <1.1 mmol/L en mujeres), presión arterial elevada (130/85 mmHg), y concentraciones elevadas en glucosa en ayuno (>5.56 mmol/L). Para diagnosticar el SMet se han establecido varios criterios, que varían de acuerdo con la organización que los define (Organización Mundial de la Salud, (OMS,1999); Grupo Europeo para el estudio de la resistencia a la insulina (ATP III, 2001, actualizado en 2005); Federación Internacional de Diabetes (IDF, 2005)).

El SMet es actualmente uno de los problemas de salud pública más importantes en el mundo; se ha calculado una prevalencia global de un cuarto de la población mundial (Saklayen, 2018) lo que, aunado al aumento en la esperanza de vida de la población, hace que los padecimientos asociados con el SMet tengan una importancia tanto médica como socioeconómica. Una persona con SMet tiene un riesgo dos veces mayor de padecer enfermedades cardiovasculares, y cinco veces mayor de padecer diabetes mellitus (Grundy, 2004), que son las principales causas de morbilidad y mortalidad en el mundo.

En México, se estima que alrededor de 45% de las muertes se deben a alguna enfermedad relacionada con el SMet (INEGI, 2018). Particularmente en México, la obesidad y el sobrepeso son el principal problema de salud pública. De acuerdo con los resultados de la Encuesta Nacional de Salud (ENSANUT 2018-19), la prevalencia nacional combinada de sobrepeso y obesidad en 2018 fue de 35.5% en infantes entre 5 y 11 años, de 38.4% en adolescentes, y en adultos fue del 76.8% en mujeres y del 73% en hombres. De acuerdo con la Organización Panamericana de la Salud (2019), México ocupa el primer lugar mundial en obesidad infantil y el segundo en obesidad en adultos, precedido sólo por los Estados Unidos, lo que tiene como consecuencia una mortalidad doce veces mayor en jóvenes de 25 a 35 años, un alto índice de incapacidad laboral por esta causa, y gastos importantes en el ingreso familiar.

Para el manejo del SMet se debe incluir la prevención, el diagnóstico temprano y el abordaje multifactorial. Se han aplicado tratamientos farmacológicos, como la administración de diuréticos, bloqueadores y antagonistas hormonales, y tratamientos no farmacológicos. Debido a que es un padecimiento íntimamente relacionado con el estilo de vida actual, que se caracteriza por un menor gasto energético y una abundante disponibilidad de alimentos desequilibrados desde el punto de vista nutricional (Bourges, 2003), dentro de los tratamientos no farmacológicos se han utilizado programas de ejercicio físico, de disminución y control de peso, y se ha puesto especial atención a la composición de la dieta, particularmente al contenido y, muy especialmente, al tipo de grasas contenidas en ésta, ya que se ha observado que algunos tipos de ácidos grasos pueden aumentar y otros pueden disminuir el riesgo de desarrollar SMet y sus enfermedades asociadas. La dieta mexicana contiene un exceso de alimentos ricos en grasas saturadas que elevan el nivel de colesterol y triglicéridos, con pocos ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico), y un exceso de ácidos grasos n-6 frente a los ácidos grasos n-3. Por lo tanto, para prevenir el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y de otras enfermedades crónico-degenerativas, es necesario replantear el estilo de vida de la población, lo cual incluye establecer una dieta equilibrada en términos de carbohidratos, proteínas, y tipo de grasas (incrementando el consumo de aceite de oliva, o de ácido oleico, de CLA, y de ácidos grasos poliinsaturados n-3, disminuyendo el consumo de grasas saturadas y polinsaturadas n-6), además de llevar un estilo de vida saludable realizando actividad física, manteniendo un peso adecuado y evitando el consumo de azúcares y tabaco (de la Iglesia et al., 2016).

Sin embargo, los mecanismos responsables de los efectos que ejercen los ácidos

grasos sobre el síndrome metabólico no se conocen con exactitud. Se han relacionado principalmente con cambios en ciertos procesos fisiológicos, como la síntesis de ecosanoides, la apoptosis, la oxidación de ácidos grasos, la actividad de enzimas involucradas en el metabolismo de los ácidos grasos, cambios en la composición de las membranas plasmáticas y la consecuente modificación de las enzimas y transportadores que se encuentran embebidas en ella. En la actualidad se conoce que algunos nutrientes pueden modular la expresión de genes de importancia metabólica de manera directa o indirecta, actuando como ligandos para la activación de factores de transcripción, metabolizándose y de ese modo alterar la concentración de substratos o intermediarios, o influyendo de modo positivo o negativo en las rutas de señalización (Gómez-Ayala, 2007; Botta et al., 2018). El conocer el efecto que tienen los nutrimentos sobre la expresión de genes está ayudando a entender, en parte, los mecanismos del desarrollo de algunas patologías, en especial de enfermedades crónico-degenerativas como son las enfermedades cardiovasculares, la hipertensión, la diabetes y la obesidad.

Antecedentes

A partir de que Bang y Dyerberg reportaron en 1971 (Bang, 1971) una baja incidencia de enfermedades cardiovasculares en poblaciones de esquimales, se hizo evidente que los ácidos grasos poliinsaturados esenciales (AGPI), en especial aquellos contenidos en los aceites de pescado (n-3), juegan un papel importante en la prevención de este tipo de enfermedades. Desde entonces, se han llevado a cabo una gran cantidad de investigaciones para dilucidar los mecanismos involucrados en el efecto de los AGPI esenciales sobre las enfermedades cardiovasculares, observando que existen diferencias entre los efectos producidos por los AGPI de las dos familias (n-6 y n-3). Se ha reportado que la ingesta de AGPI n-3 tiene efectos benéficos sobre el sistema cardiovascular, como la reducción en la viscosidad de la sangre y un aumento en el flujo sanguíneo en los capilares periféricos, y promueven la disminución en los niveles de presión arterial, y de los niveles circulantes de triglicéridos, lipoproteínas de baja densidad (LDL), colesterol e insulina, entre otros (Albracht-Schulte *et al.*, 2018). En contraste, los AGPI n-6, contenidos en los aceites vegetales como el de maíz y soya, se han relacionado con el desarrollo de resistencia a la acción de la insulina, por lo que su ingesta elevada ha sido considerada como factor de riesgo para el desarrollo del síndrome metabólico. De igual manera, los ácidos grasos saturados, que se encuentran principalmente en las grasas derivadas de animales, como la mantequilla, la manteca, la crema, el queso, la grasa de cordero, se asocian con una alta incidencia de enfermedades

cardiovasculares, elevando los niveles de colesterol y triglicéridos en sangre, y promoviendo la formación de placas de ateroma en las arterias (Roche, 2005; Oliart, *et al.*, 2001; Jang y Park, 2020).

Por otro lado, a los ácidos grasos monoinsaturados, cuyo principal representante es el ácido oleico (cis 18:1), presente en todas las grasas animales y aceites vegetales, especialmente en el aceite de oliva, se les han atribuido efectos benéficos para la salud, como la normalización del perfil lipídico, la reducción en la oxidación de las LDL, la reducción en la presión arterial, un aumento en la vaso dilatación arterial, una disminución de la trombosis, una menor activación de las células mononucleares y de la pared vascular, y una mejoría del metabolismo de la glucosa en la diabetes (Yubero-Serrano *et al.*, 2019). Un caso similar es el del ácido linoleico conjugado (CLA), constituido por una mezcla de isómeros del ácido linoleico con enlaces dobles conjugados, que ha atraído considerablemente la atención en años recientes debido a que se han demostrado sus efectos benéficos en la inhibición de la carcinogénesis, en la atenuación de la arterioesclerosis, de la diabetes mellitus, y en la reducción de la grasa corporal en humanos y modelos animales (Inoue, 2004; Martín-González *et al.*, 2020).

El efecto de los ácidos grasos, o sus metabolitos, ha sido asociado con la regulación de la expresión génica, particularmente de genes asociados con la diferenciación de adipocitos y el metabolismo de lípidos. Se han descrito genes regulados por los AGPI de manera positiva y negativa, teniendo efectos principalmente en la velocidad de transcripción del gen, en la transcripción de factores de transcripción, o ejerciendo efectos postranscripcionales, en tejidos como el hígado, el tejido adiposo y el intestino. A este respecto, se ha observado que los AGPI n-3, en especial el ácido eicosapentaenoico (EPA), disminuyen los niveles sanguíneos de triglicéridos, por la inhibición de la síntesis de ácidos grasos a través de la disminución en la actividad y síntesis de las enzimas lipogénicas ácido graso sintasa y acetil coenzima A carboxilasa, y de la diacilglicerol aciltransferasa, y el incremento de la actividad y la expresión de la lipoprotein lipasa del músculo y corazón (Roche *et al.*, 2005; Botta *et al.*, 2018).

En la Unidad de Investigación de Desarrollo en Alimentos del Instituto Tecnológico de Veracruz se desarrolla una línea de investigación que tiene como objetivo analizar el efecto de los ácidos grasos contenidos en la dieta sobre los diferentes parámetros que componen el síndrome metabólico en modelos animales, con la finalidad de aportar conocimiento científico sobre estrategias no farmacológicas

de prevención y tratamiento del síndrome, así como de los mecanismos celulares y moleculares por los cuales los nutrientes ejercen sus efectos.

Metodología

Para estos estudios se utilizaron tres modelos de síndrome metabólico en ratas macho recién destetadas: uno inducido por la administración de sacarosa al 30% en el agua de beber durante 10 semanas (Baños, 1997), y dos modelos genéticamente determinados: las ratas hipertensas espontáneas (SHR) y las ratas Zucker.

Se analizó el efecto de la administración de dietas ricas en diferentes ácidos grasos sobre los parámetros que caracterizan al SMet. Para ello, se administraron a las ratas dietas preparadas donde la fuente de lípidos fue proporcionada por aceites con diferente composición de ácidos grasos, al 7.5%. Los ácidos grasos que se utilizaron fueron: ácidos grasos polinsaturados esenciales de la familia n-3 (contenidos en el aceite de pescado), ácidos grasos polinsaturados esenciales de la familia n-6 (contenidos en el aceite de maíz), ácidos grasos saturados (contenidos en el aceite de coco), ácido linoleico conjugado y ácido vaccénico (contenidos en fracciones de grasa butírica anhidra naturalmente enriquecida), y ácido estercúlico (contenido en el aceite de las semillas de plantas del género *Sterculia*), que fue administrado al 0.4%. La composición de ácidos grasos de las dietas administradas se muestra en la Tabla 8.1. Las dietas fueron administradas *ad libitum* durante seis semanas, manteniendo a las ratas en un ciclo de luz oscuridad 12/12 h a 25 °C.

Los efectos de las dietas se analizaron en términos de su impacto sobre la sensibilidad a la insulina, la presión arterial, los niveles séricos de insulina, glucosa, triglicéridos, colesterol, lípidos, lipoproteínas, factor de necrosis tumoral, adiponectina, sobre la composición lipídica de las membranas plasmáticas de adipocitos, y sobre la expresión del gen *fat/cd36*, que codifica para una proteína transportadora de ácidos grasos, y del factor de transcripción PPAR γ .

Tabla 8.1. Composición de ácidos grasos de las dietas administradas a las ratas con síndrome metabólico

Ácido graso	Maíz-canola (%)	Aceite de pescado (%)	Aceite de maíz (%)	Aceite de coco (%)	Grasa butírica anhidra (%)	Aceite estercúlico (%)
Saturados						
6:0	Nd	Nd	Nd	Nd	1.41	Nd
8:0	Nd	Nd	Nd	Nd	1.24	0.05
10:0	0.05	0.07	0.02	0.9	2.41	0.03
12:0	Nd	Nd	Nd	51.3	2.82	0.04
14:0	Nd	14.4	Nd	22.6	6.74	0.17
16:0	12.8	21.9	15.6	18.8	13.84	12.20
18:0	Nd	2.3	Nd	0.35	11.61	3.48
20:0	Nd	6.5	5.5	Nd	0.13	0.85
22:0						0.35
Total	12.85	45.1	21.1	93.9	40.21	17.17
Monoinsaturados						
14:1	nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
16:1	nd	9.1	Nd	Nd	1.78	0.36
18:1	50.7	13.9	31.8	3.8	29.78	37.53
20:1	nd	nd	6.6	Nd	0.20	1.09
24:1	nd	2.6	Nd	Nd	Nd	Nd
VA	Nd	Nd	Nd	Nd	10.22	Nd
Total	50.7	25.6	38.4	3.8	41.98	38.99
Polinsaturados						
CLA					14.09	Nd
n-6						
18:2	32.8	1.4	40.2	1.1	3.21	35.83
20:4	Nd	1.1	Nd	Nd	Nd	Nd
Total	32.8	2.5	40.2	1.1	3.21	35.83
n-3						
18:3	3.5	0.96	Nd	Nd	0.5	7.77
18:4	Nd	2.05	Nd	Nd	Nd	Nd
20:5	Nd	11.2	Nd	Nd	Nd	Nd
22:6	Nd	11.9	Nd	Nd	Nd	Nd
Total	3.5	26.1	Nd	Nd	0.5	7.77
Estercúlico						0.25
n-6/n-3	9.3	0.09	---	--	6.43	4.61

Nd: no detectado

Resultados y discusión

Los tres modelos murinos de síndrome metabólico presentaron, por lo menos, tres de los parámetros característicos del síndrome (elevación en presión arterial, niveles circulantes de insulina, triglicéridos, ácidos grasos libres, lípidos totales).

Modelo inducido por sacarosa: en el modelo inducido por la administración de sacarosa al 30% en el agua de beber se analizó el efecto de diversos aceites al 7.5% en la dieta como única fuente lipídica (aceite de pescado, aceite de maíz y aceite de coco). Después de seis semanas de administración de las dietas, se observaron efectos benéficos con la administración de aceite de pescado: disminución de la presión arterial, niveles circulantes de insulina, triglicéridos, LDL, HDL, colesterol, y ácidos grasos libres. El efecto del aceite de coco fue la disminución de la presión arterial, y de los niveles circulantes de insulina y triglicéridos. El aceite de maíz disminuyó únicamente los niveles de triglicéridos.

Al analizar la composición de los ácidos grasos de las membranas de los adipocitos se comprobó la incorporación de ácidos grasos omega 3 en el caso del aceite de pescado, de omega 6 en el caso del aceite de maíz, y de ácidos grasos saturados en el caso del aceite de coco. La naturaleza de los ácidos grasos que componen la bicapa lipídica de las células determina las propiedades fisicoquímicas de las membranas, lo cual tiene influencia en las funciones celulares. Un aumento en las concentraciones de los ácidos grasos polinsaturados de la familia n-3 EPA y DHA en las membranas de los adipocitos incrementa la fluidez membranal, con lo que se mejora la transducción de señales a través de ellas. Esto favorece la unión de la insulina a sus receptores, la traslocación de los transportadores GLUT4, y por lo tanto, mejora la respuesta a la acción de la insulina. Por otro lado, al haber una mayor cantidad de PUFA n-3 como sustratos para la síntesis de eicosanoides, se inhibe la formación de los protrombóticos derivados del ácido araquidónico (n-6), y se favorece la producción de metabolitos antiinflamatorios, antidiabéticos y antiobesidad derivados del EPA y DHA (n-3), mejorando con ello la sensibilidad a la insulina y las alteraciones metabólicas características del síndrome metabólico.

La administración del aceite de pescado provocó también un aumento de la expresión del gen *fat/cd36*, implicado en el transporte de ácidos grasos a través de las membranas celulares (Figura 8.1). Se ha propuesto que una deficiencia en el transportador CD36 tiene como consecuencia resistencia a la acción de la insulina, alteraciones en el metabolismo de ácidos grasos e hipertrigliceridemia (Aitman et

al. 1999). El aumento en la expresión del gen que codifica para este transportador, con el consecuente incremento de la proteína en la membrana, debe tener como consecuencia una mayor captación y almacenamiento celular de lípidos, reduciendo la disponibilidad de estos para la síntesis de triacilglicéridos, así como la estimulación de la captación de glucosa, mejorando la sensibilidad a la insulina (Lee et al., 2003; Uauy et al., 2000; Alexander et al., 2017). Estos resultados fueron de hecho observados en las ratas del estudio.

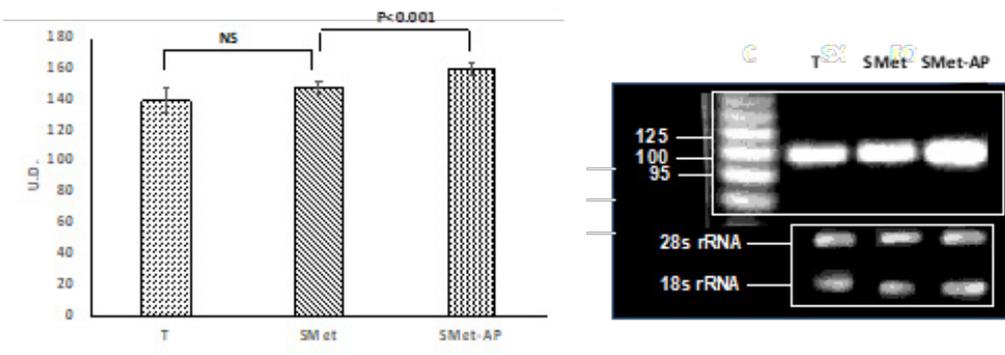


Figura 8.1 Niveles de expresión del gen *fat/cd36* en las ratas con síndrome metabólico inducido, después de la administración de aceite de pescado. T: testigo; SMet: ratas con síndrome metabólico; SMet-AP: ratas alimentadas con aceite de pescado.

Ratas hipertensas espontáneas (SHR): En las ratas hipertensas espontáneas se analizó el efecto del aceite de pescado, de grasa butírica anhidra enriquecida en CLA y VA, y de aceite estercúlico. En este modelo se observaron también efectos benéficos con la administración de aceite de pescado: disminución de la presión arterial, de los niveles circulantes de insulina, triglicéridos, LDL, HDL, colesterol, ácidos grasos libres. Al igual que con el modelo inducido por sacarosa, en este grupo también se incrementó la expresión del gen *fat/cd36* (Alexander Aguilera et al., 2006) (Figura 8.2).

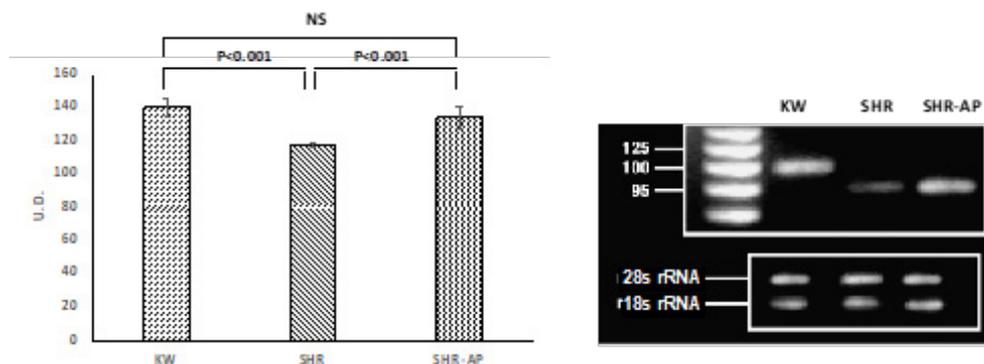


Figura 8.2. Niveles de expresión del gen *fat/cd36* en las ratas hipertensas espontáneas (SHR), después de la administración de aceite de pescado. KW: testigo; SHR: ratas hipertensas espontáneas; SHR-AP: ratas alimentadas con aceite de pescado.

Con la administración de la grasa butírica anhidra enriquecida en CLA y VA se observaron los siguientes efectos benéficos: disminución de niveles circulantes de colesterol, triglicéridos, HDL, insulina, adiponectina, y mejoramiento de la sensibilidad a insulina (HOMA-IR). Aunque la grasa butírica anhidra es rica en ácidos grasos saturados que son considerados como factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, también se ha reportado que tiene efectos benéficos en el perfil lipídico y los niveles de oxidación e inflamación (Kumar *et al.*, 1999; Tholstrup *et al.*, 2006; Sharma *et al.*, 2010; Herrera-Meza *et al.*, 2012), y se ha sugerido que el efecto benéfico está dado por la presencia de ácidos grasos monoinsaturados, ácido linoleico conjugado y ácido vaccénico, que son antiaterogénicos y anticancerígenos (Lai *et al.*, 1995; Kumar *et al.*, 1999; Tholstrup *et al.*, 2006; Sharma *et al.*, 2010). En el trabajo se demostró la incorporación de estos ácidos grasos en las membranas celulares, que pueden entonces funcionar como ligandos de los factores de transcripción PPAR, regulando así la expresión de genes involucrados en el metabolismo lipídico y en la sensibilidad a insulina (Inoue *et al.* 2004; Field *et al.*, 2009; Jacome-Sosa *et al.*, 2010; Herrera-Meza *et al.*, 2013).

La administración de aceite estercúlico, utilizado para inhibir la conversión del VA a CLA (Corl *et al.*, 2001), provocó por sí mismo efectos benéficos al disminuir el peso corporal, la presión arterial, la adiposidad, y los niveles circulantes de triglicéridos, HDL, y adiponectina. El aceite estercúlico contiene importantes concentraciones de ácido estercúlico (51%), que es un ácido ciclopropenoico que se encuentra en las

semillas de las plantas del orden Malvales (Guerrero *et al.*, 1985). El aceite utilizado en este trabajo fue extraído de semillas de *Sterculia apetala* localizada en la zona de las Choapas, Veracruz (Herrera-Meza *et al.*, 2014). Se ha demostrado que este ácido graso inhibe la actividad de la enzima delta-9 desaturasa (Gomez *et al.*, 2003), implicada en el metabolismo de ácidos grasos, por lo que se actualmente se ha considerado como un posible nutraceutico para la prevención y tratamiento de la obesidad (Dobrzyn and Ntambi 2004; Major *et al.*, 2008; Miyazaki *et al.*, 2009; Ortinau *et al.*, 2012; Ramírez.Higuera *et al.*, 2020).

Ratas Zucker: en este modelo se analizó el efecto de la administración de aceite estercúlico. En este caso, los efectos fueron limitados, ya que sólo se observó la disminución de los niveles séricos de triglicéridos y en la expresión de los genes de leptina y PPAR γ . Seguramente, las alteraciones metabólicas presentes en las ratas Zucker hacen de éstas un modelo de difícil reversión (Aleixandre and Miguel, 2008).

Conclusiones

El síndrome metabólico es un serio problema de salud, con alta prevalencia en México, por lo que la búsqueda de estrategias de prevención y tratamiento es de primera importancia. Con este trabajo se pretende aportar conocimiento científico sobre estrategias no farmacológicas de prevención y tratamiento del síndrome metabólico, así como de los mecanismos celulares y moleculares por los cuales los nutrientes ejercen sus efectos. Finalmente, al encontrar el valor terapéutico de ciertos productos se pretende dar un valor agregado a los alimentos producidos en la región de Veracruz.

Referencias

1. Aitman, T.J., Glazier, A.M., Wallace, C.A., Cooper, L.D., Norsworthy, P.J., Wahid, F.N., et al. (1999). Identification of Cd36 (Fat) as an insulin-resistance gene causing defective fatty acid and glucose metabolism in hypertensive rats. *Nat Genet*, 21,76-83. <https://doi.org/10.1038/5013>
2. Albracht-Schulte, K., Kalupahana, N.S., Ramalingam, L., Wang, S., Rahman, S.M., Robert-McComb, J., Moustaid-Moussa, N. (2018). Omega-3 fatty acids in obesity and metabolic syndrome: a mechanistic update. *J Nutr Biochem*, 58, 1-16. doi:10.1016/j.jnutbio.2018.02.012

3. Aleixandre, A., Miguel, M. (2008). Ratas Zucker como modelo experimental para el estudio de diferentes enfermedades. *Endocrinol Nutr*, 55(5), 217-22. doi: 10.1016/S1575-0922(08)70670-3
4. Alexander-Aguilera, A., Angulo-Guerrero, O., Quintana-Castro, R., Soto-Rodríguez, I., Sánchez-Otero, G., Oliart-Ros, RM. (2017). CD36 gene expression induced by fish oil in abdominal adipose tissue of rats with metabolic syndrome. *J Food Nutr Disord*, 6(2), 1-6. doi: 10.4172/2324-9323.1000220
5. Alexander, A.A., Hernández, D.G., Lara, B.M., Angulo, G.O., Oliart, R.R. (2006). Induction of Cd36 expression elicited by fish oil PUFA in spontaneously hypertensive rats (SHR). *J Nutr Biochem*, 17(11), 760-765. doi: 10.1016/j.jnutbio.2005.12.007
6. Bang, H.O., Dyerberg, J., Nielsen, A.B. (1971). Plasma lipid and lipoprotein patterns in Greenlandic West Coast Eskimos. *Lancet*, 1(7710), 1143-1147. doi: 10.1016/s0140-6736(71)91658-8
7. Baños, G., Carbajal, K., Cardoso, G., Zamora, J., Franco, M. (1997). Vascular reactivity and effects of serum in a rat model of hypertriglyceridemia and hypertension. *Am J Hypert*, 10(4 Pt 1), 379-388. doi: 10.1016/s0895-7061(96)00400-1
8. Botta, M., Audano, M., Sahebkar, A., Sirtori, C.R., Mitro, N., Ruscica, M. (2018). PPAR agonists and metabolic syndrome: an established role? *Int J Mol Sci*, 19(4),1197. doi: 10.3390/ijms19041197
9. Bourges, H. (2003). La Nutriología a partir de la doble hélice. *Rev Invest Clin*, 55(2), 220-226.
10. Corl, B.A., Baumgard, L.H., Dwyer, D.A., Griinari, J.M., Phillips, B.S., Bauman, D.E. (2001). The role of Δ -9 desaturase in the production of cis-9, trans-11 CLA. *J Nutr Biochem*, 12(11), 622-630. doi: 10.1016/s0955-2863(01)00180-2
11. de la Iglesia, R., Loria-Kohen, V., Zulet, M.A., Martínez, J.A., Reglero, G., Ramírez de Molina, A. (2016). Dietary strategies implicated in the prevention and treatment of metabolic syndrome. *Int J Mol Sci*, 17(11), 1877. doi: 10.3390/ijms17111877
12. Dobrzyn, A., Ntambi, J.M. (2004). The role of stearoyl CoA desaturase in body weight regulation. *Trends Cardiovasc Med*, 14(2), 77-81. doi: 10.1016/j.tcm.2003.12.005
13. Field, C.J., Blewett, H.H., Proctor, S., Vine, D. (2009). Human health benefits of vaccenic acid. *Appl Physiol Nutr Metab*, 34(5), 979-991. doi: 10.1139/H09-079
14. Gomez, E.F., Bauman, D.E, Ntambi, J.M., Fox, B.G. (2003). Effects of sterculic

- acid on stearoyl-CoA desaturase in differentiating 3T3L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 300(2), 316-326. doi: 10.1016/s0006-291x(02)02842-5
15. Gómez-Ayala, A.E. (2007). Nutrigenómica y nutrigenética. *Offarm*, 26(4), 78-85.
 16. Grundy, S.M., Brewer, H.B Jr., Cleeman, J.I., Smith, S.C Jr., Lenfant, C. (2004). Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation*, 109(3), 433-8. doi: 10.1161/01.CIR.0000111245.75752.C6
 17. Grundy, S.M. (2016). Metabolic syndrome update. *Trends Cardiovasc Med*, 26(4), 364-73. doi: 10.1016/j.tcm.2015.10.004
 18. Guerrere, M., Mondon, J.M., Pujaniaye, A. (1985). Physicochemical composition of some seeds from plants of the Isle of Reunion. *Ann Falsif Expert Chil Toxicol*, 78, 281-286.
 19. Herrera-Meza, S., Martínez, J.A., Sánchez-Otero, M.G., Mendoza-López, M.R., García-Barradas, O., Ortiz-Viveros, G.R., Oliart-Ros, R.M. (2014). Fatty acid composition and some physicochemical characteristics of *Sterculia apetala* seeds oil. *Grasas y Aceites*, 65(3): e039. DOI: 10.3989/gya.0223141
 20. Herrera-Meza, S., Mendoza-López, R., García-Barradas, O., Sánchez-Otero, MG., Silva-Hernández, E., Angulo, O., Oliart-Ros, RM. (2013). Dietary anhydrous milk fat naturally enriched with conjugated linoleic acid and vaccenic acid modify cardiovascular risk biomarkers in spontaneously hypertensive rats. *Int J Food Sci Nutr*, 64(5), 575-86. doi: 10.3109/09637486.2013.763908
 21. Herrera-Meza, S., Mendoza-López, R., Jácome-Sosa, M., Proctor, S., Angulo, O., Silva-Hernández, E., Oliart-Ros, R. (2012). Increase of conjugated linoleic acid and vaccenic acid in anhydrous milk fat using dry fractionation and its effect on the atherogenic index. *Interciencia*, 37(7), 528-533. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=339/33925376007>
 22. Inoue, N., Nagao, K., Hirata, J., Wang, Y., Yanagita, T. (2004). Conjugated linoleic acid prevents the development of essential hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Biochem Biophys Res Commun*, 323(2), 679-684. doi: 10.1016/j.bbrc.2004.08.139
 23. Jacome-Sosa, M.M., Lu, J., Wang, Y., Ruth, M.R., Wright, D.C., Reaney, M.J., et al. (2010). Increased hypolipidemic benefits of cis-9, trans-11 conjugated linoleic acid in combination with trans-11 vaccenic acid in a rodent model of the metabolic syndrome, the JCR:LA-cp rat. *Nutr Metab (Lond)*, 7, 60. doi:

- 10.1186/1743-7075-7-60
24. Jang, H., Park, K. (2020). Omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids and metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Clin Nutr*, 39(3), 765-773. doi: 10.1016/j.clnu.2019.03.032
 25. Kaur, J. (2014). A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol Res Pract*, 2014:943162. doi: 10.1155/2014/943162
 26. Kumar, M.V., Sambaiah, K., Lokesh, B.R. (1999). Effect of dietary ghee anhydrous milk fat, on blood and liver lipids in rats. *J Nutr Biochem*, 10(2), 96-104. doi: 10.1016/s0955-2863(98)00088-6
 27. Lai, H.H., Lasekan, J.B., Monsma, C.C., Ney, D.M. (1995). Alteration of plasma of modified milk fat lipids in the rat by fractionation (Butterfat). *J Dairy Sci*, 78(4), 794-803. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(95)76691-7
 28. Lee, C.H., Olson, P., Evans, R.M. (2003). Minireview: lipid metabolism, metabolic diseases, and peroxisome proliferators-activated receptors. *Endocrinology*, 144(6), 2201-7. doi: 10.1210/en.2003-0288
 29. Major, C.A., Ryan, K., Bennett, A.J., Lock, A.L., Bauman, D.E., Salter, A.M. (2008). Inhibition of stearoyl CoA desaturase activity induces hypercholesterolemia in the cholesterol-fed hamster. *J Lipid Res*, 49(7), 1456-1465. doi: 10.1194/jlr.M700596-JLR200
 30. Martín-González, M.Z., Palacios, H., Rodríguez, M.A., Arola, L., Aragonès, G., Muguerza, B. Nutrients. (2020). Beneficial effects of a low-dose of conjugated linoleic acid on body weight gain and other cardiometabolic risk factors in cafeteria diet-fed rats. *Nutrients*, 12(2), 408. doi: 10.3390/nu12020408
 31. Miyazaki, M., Sampath, H., Liu, X. Flowers, M.T., Chu, K., Dobrzyn, A., Ntambi J.M. (2009). Stearoyl-CoA desaturase-1 deficiency attenuates obesity and insulin resistance in leptin-resistant obese mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 380(4): 818-822. doi: 10.1016/j.bbrc.2009.01.183
 32. Oliart, R.R.M., Torres-Márquez, M.E., Badillo, A., Angulo, G.O. (2001). Dietary fatty acids effects on sucrose-induced cardiovascular syndrome in rats. *J Nutr Biochem*, 12(4), 207-212. doi: 10.1016/s0955-2863(00)00134-0
 33. Ortinau, L.C., Pickering, R.T., Nickelson, K.J., Stromsdorfer, K.L., Naik C.Y., Haynes, R.A., Bauman, D.E., Rector, R.S., Fritsche, K.L., Perfield, J.W. (2012). Sterculic oil, a natural SCD1 inhibitor, improves glucose tolerance in obese ob/ob mice. *ISRN Endocrinol*, 2012:947323. doi: 10.5402/2012/947323
 34. Roche, H.M. (2005). Fatty acids and the metabolic syndrome. *Proc Nutr Soc*, 64(1), 23-29. doi: 10.1079/pns2004405.
 35. Roche, H.M., Phillips, C., Gibney, M.J. (2005). The metabolic syndrome: the

- crossroads of diet and genetics. *Proc Nutr Soc*, 64(3), 371-377. doi: 10.1079/pns2005445
36. Saklayen, M.G. (2018). The global epidemic of the metabolic syndrome. *Curr Hypertens Rep*, 20(2):12. doi: 10.1007/s11906-018-0812-z
 37. Sharma, H., Zhang, X., Dwivedi, C. (2010). The effect of ghee (clarified butter) on serum lipid levels and microsomal lipid peroxidation. *AYU*, 31(2):134-140. doi: 10.4103/0974-8520.72361
 38. Tholstrup, T., Raff, M., Basu, S., Nonboe, P., Sejrsen, K., Straarup, E.M. (2006). Effects of butter high in ruminant trans and monounsaturated fatty acids on lipoproteins, incorporation of fatty acids into lipid classes, plasma C-reactive protein, oxidative stress, hemostatic variables, and insulin in healthy young men. *Am J Clin Nutr*, 83(2):237-243. doi: 10.1093/ajcn/83.2.237.
 39. Tovar, A.R., Torres, N. (2003). La Nutriología Molecular: una nueva era de la Nutrición. *Rev Invest Clin*, 55(2), 177-180.
 40. Uauy, R.D., Martínez, A.J., Rojas, B.C. (2000). Molecular nutrition: regulation of lipid metabolism by peroxisome proliferator activated receptors (PPAR). Their relationship to obesity and diabetes mellitus. *Rev méd Chile*, 128(4), 437-446. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872000000400012>
 41. Yubero-Serrano, E.M., López-Moreno, J., Gómez-Delgado, F., López-Miranda, J. (2019). Extra virgin olive oil: More than a healthy fat. *Eur J Clin Nutr*, 72(Suppl 1), 8-17. doi: 10.1038/s41430-018-0304-x

Producción y caracterización de una proteína recombinante compuesta por un dominio VNAR anti TGF- β y la chaperona tiorredoxina

Burciaga Flores M.¹, Fuentes Medina E.¹, Camacho Villegas T.^{2a}.

¹ Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica, sede Guadalajara, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A. C. (CIATEJ).

² Cátedra CONACYT comisionada a la Unidad de Biotecnología Médica y Farmacéutica, sede Guadalajara, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A. C. (CIATEJ).

^a Autor de correspondencia: tcamacho@ciatej.mx

Palabras claves: Proteína recombinante, VNAR, tiorredoxina

Resumen

El Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF- β), es una citocina multifuncional implicada en la diferenciación y proliferación celular, la cicatrización y reparación tisular, entre otros. No obstante, el TGF- β también se ha relacionado con diversos procesos patológicos, específicamente cuando se sintetiza en cantidades elevadas, produciendo alteraciones como la cirrosis hepática, fibrosis pulmonar, cáncer, por mencionar algunas. Recientemente, se han explorado estrategias farmacológicas para la neutralización de esta citocina empleando dominios sencillos de cadena pesada. Para mejorar el rendimiento de expresión de proteína de un dominio vNAR que puede aplicarse como alternativa de reconocimiento y neutralización de TGF- β , se generó un plásmido recombinante que contiene la secuencia codificante de un dominio vNAR anti-TGF- β y la proteína de fusión (tiorredoxina). A esta construcción se le denominó vNAR-T1/Trx. Se realizó la expresión heteróloga en un sistema bacteriano de *E. coli* BL21(DE3), demostrando que la construcción vNAR-T1/Trx en el plásmido pET32 α +, favorece la sobreexpresión de la proteína recombinante (29 kDa). Específicamente, al utilizar el medio de cultivo 2xYT se incrementó el rendimiento de la proteína recombinante vNAR-T1/Trx en 6.4 veces al compararlo con el rendimiento obtenido en medio LB. El análisis de reconocimiento mostró que el vNAR fusionado con Trx conserva su reconocimiento por TGF- β 1. Los hallazgos aquí presentados sientan las bases para la producción del vNAR-T1 con

mejor rendimiento, facilitando a su vez, el desarrollo de ensayos in vitro e in vivo en donde una gran cantidad de vNAR es requerida.

Introducción

En el humano, el TGF- β tiene tres isoformas (TGF- β 1, TGF- β 2 y TGF- β 3) que se producen en diversas concentraciones y que tienen funciones similares. Se han desarrollado diversas estrategias farmacológicas que buscan la neutralización o modulación del TGF- β para el tratamiento de insuficiencia renal crónica, cáncer y otras enfermedades. Principalmente, estos desarrollos se basan en extractos de plantas y antioxidantes (Hafez et al., 2017; Zheng et al., 2017), inhibidores pequeños (Song et al., 2020; Wick et al., 2020), antagonistas de los receptores (Yu & Jeremy, 2018), péptidos sintéticos (Zhang et al., 2013), proteínas quiméricas (Takahashi et al., 2020; Teicher, 2020) y anticuerpos monoclonales (mAb) neutralizantes de los receptores o de las isoformas del TGF- β (Bedinger et al., 2016; Gonzalez-Junca et al., 2020). Sin embargo, continua el desafío de generar anticuerpos con reconocimiento de las tres isoformas (Bedinger et al., 2016).

En ese sentido, los anticuerpos de dominio sencillo (sdAb) aislados de camélidos (vHH) o tiburones (vNAR), forman parte de la tercera generación de agentes terapéuticos basados en anticuerpos (Wang et al., 2016) y potencialmente son más eficientes que los mAbs convencionales (Pothin, Lesuisse, & Lafaye, 2020; Zielonka et al., 2016). En los últimos años, se han propuesto como una innovadora opción tanto en aplicaciones diagnósticas y terapéuticas (Cheong, Leow, Abdul Majeed, & Leow, 2020; English, Hong, & Ho, 2020; Stocki et al., 2019) debido a sus singulares características, entre las que destacan: el peso molecular (12-15 kDa), termoestabilidad, alta afinidad y avidéz, capacidad de reconocer y neutralizar sus antígenos, buena penetración tisular y capacidad de replegamiento (Sehlin et al., 2020; Stocki et al., 2019; Tillib, 2020). Estos dominios son obtenidos a partir de genotecas y su aislamiento se realiza mediante despliegue en fagos (Alfaleh et al., 2020).

En el equipo de trabajo se cuenta con un dominio vNAR (nombrado T1) que fue previamente aislado de una biblioteca no inmune de un tiburón cornudo *Heterodontus francisci* en colaboración con CICESE. El vNAR-T1 va dirigido contra el TGF- β humano (hTGF- β) y reconoce las tres isoformas, por lo tanto, es una alternativa prometedora para la detección de TGF- β en tumores sólidos o en la detección de TGF- β en diversas matrices biológicas.

Desarrollo

En el equipo de trabajo se ha producido el vNAR-T1 en sistemas heterólogos de levadura (*Pichi pastoris*) y bacteria (*E. coli*). Sin embargo, existen problemas asociados al rendimiento final obtenido (gramos de proteína por litro de cultivo inducido), lo cual puede estar asociado a los enlaces disulfuro del vNAR-T1.

Para superar esto, los plásmidos pET32 α + (Novagen) están diseñados para la expresión de proteínas fusionadas con la proteína de tiorredoxina (Trx-Tag). La fusión de la proteína de interés con TrxA puede mejorar la formación de enlaces disulfuro. El plásmido pET32 α +, incluye una etiqueta de poli-histidinas (6xHis), resistencia a la ampicilina y el promotor T7 (Liu & Yang, 2012). Aquí, planteamos el uso de una proteína chaperona (tiorredoxina) para incrementar los niveles de expresión del vNAR-T1 en el sistema heterólogo de *E. coli* BL21(DE3). Así mismo, analizar tres condiciones de medios de cultivo, una estrategia de extracción y un método de purificación para finalmente determinar que el vNAR-T1/Trx mantiene su capacidad de reconocimiento por TGF- β .

Entorno metodológico

Sub-clonación molecular

Con la finalidad de movilizar el fragmento que codifica para el dominio vNAR-T1 hacia el plásmido pET32 α +, se realizó una PCR para amplificar el fragmento del vNAR-T1 (~354 pb), adicionando sitios de restricción para las enzimas NcoI y XhoI.

Los productos de PCR se evaluaron en un gel de agarosa al 1%, en condiciones de 80 V constantes durante 50 min. Se realizó la purificación de los productos de PCR empleando el kit de limpieza de ADN y PCR de Monarca® (T1030S, NEB). Los productos amplificados vNAR-T1 y pET32 α + fueron digeridos con las enzimas de restricción XhoI y NcoI para generar extremos cohesivos. Para recuperar el plásmido pET32 α + digerido, se realizó un gel preparativo (agarosa al 0.8 %), realizando la electroforesis a 80 V constantes por 2 h. Se recortó la banda correspondiente al plásmido digerido y se usó el kit de extracción de gel de ADN de Monarca® (T1020S, NEB). Las muestras fueron cuantificadas por Nanodrop a una longitud de onda de 260 y 280 nm.

Para obtener el plásmido pET32 α +vNAR-T1, se ligó el vNAR-T1 con el plásmido pET32 α +, utilizando la enzima T4 DNA Ligasa (Promega), en relación 1:3. La reacción se incubó por 16 h a temperatura ambiente y se inactivó la enzima siguiendo las indicaciones del fabricante. La tiorredoxina corresponde a un fragmento de ~366 pb, por lo tanto, la construcción obtenida para el fragmento vNAR-T1/Trx fue de ~750 pb.

Selección de clona positiva

El plásmido pET32 α +vNAR-T1 fue transferido a la cepa de clonación *E. coli* TOP10, por la electroporación de 100 μ L de células electrocompetentes con 1 μ L de plásmido pET32 α +vNAR-T1, utilizando una celda de 0.2 mm y un electroporador (BioRad). Se electroporó a 25 μ F, 100 Ω y 2.5 Kv por ~5 ms. Las células transformadas se recuperaron en 3 mL de medio SOC y el cultivo se incubó durante 1 h a 37 °C y 250 rpm. Después, se realizó la selección de las clonas transformadas inoculando tres placas de medio LB (100 μ g/mL de ampicilina) con 100 μ L, 10 μ L y 1 μ L, respectivamente. Las placas se incubaron a 37 °C durante 16 h. El tamizaje se realizó eligiendo al azar en cinco colonias aisladas. Estas colonias se evaluaron por PCR y se seleccionó una colonia positiva para la purificación del plásmido pET32 α +vNAR-T1. Se inocularon 10 mL de medio LB (100 μ g/mL de ampicilina), incubando toda la noche a 37 °C con agitación constante a 250 rpm. Al día siguiente se realizó la extracción del plásmido mediante el uso del kit "Monarch® Plasmid Miniprep" (New England Biolabs, T1010S) de acuerdo con las indicaciones del fabricante. La integridad del plásmido se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 0.8 %, durante 50 min a 80 V constantes.

Expresión de la proteína vNAR-T1/Trx

Se transfirió el plásmido pET32 α +vNAR-T1 a la cepa de expresión *E. coli* BL21 (DE3) utilizando las mismas condiciones mencionadas en el apartado anterior. Para corroborar la transformación de las colonias con el plásmido recombinante pET32 α +vNAR-T1, se realizó PCR a cinco colonias seleccionadas al azar. Los productos de PCR se evaluaron en un gel de agarosa al 1%, en condiciones de 80 V constantes durante 50 min. Se solicitó el servicio de secuenciación (LANBAMA, IPICYT) de las clonas positivas por PCR.

Después de corroborar la secuencia del plásmido pET32 α +vNAR-T1, se realizaron los experimentos de inducción del pET32 α +vNAR-T1/Trx en la cepa *E. coli* BL21 (DE3)

para producir la proteína recombinante en tres medios de cultivo: LB, TB y 2xYT. Se colocaron 50 mL de los medios de cultivo en matraces de 250 mL, se incubaron a 37 °C a 250 rpm monitoreando la densidad óptica (DO_{600nm}). Cuando la DO_{600nm} se encontraba entre 0.5-0.7 se agregó el inductor IPTG a una concentración final de 1 mM. Los cultivos se incubaron durante 5 h a 250 rpm y 37 °C. Finalmente, se centrifugaron los cultivos, separando la pastilla bacteriana del sobrenadante. Se almacenaron las muestras a -20 °C hasta su uso.

Extracción de la proteína vNAR-T1/Trx

Las pastillas bacterianas de cada muestreo se resuspendieron en 200 μ L de tampón de lisis celular (Tris-HCl 50 mM pH 7.5, NaCl 50 mM). Se realizó la extracción de proteína mediante ultra sonicación. Se centrifugaron los lisados a 13,500 rpm durante 5 min. Se recuperó el sobrenadante y se congeló a -20 °C hasta su uso.

Evaluación de la proteína vNAR-T1/Trx mediante SDS-PAGE

Los extractos proteicos se evaluaron mediante electroforesis en gel de poliacrilamida SDS-PAGE-Glicina al 12 %. Las muestras se desnaturalizaron en la solución de carga a 95 °C por 10 min y se incubaron 3 min en hielo. Las condiciones de corrida fueron 120 V constantes y ~80 min (hasta que el frente de azul de bromofenol alcanzó la base del gel). Los geles fueron teñidos con azul brillante de Coomassie (Coomassie brilliant blue R-250) durante 2 h. Para eliminar el ruido de fondo se empleó solución de desteñido (Metanol 50%, Ácido Acético 10 %, agua destilada 40 %) durante toda la noche. Las imágenes se documentaron digitalmente.

Inmunodetección de la proteína vNAR-T1/Trx

Después de la electroforesis, se realizó la electro-transferencia desde el gel de poliacrilamida al 12 % a una membrana de nitrocelulosa (Millipore) de 0,22 μ m utilizando un sistema de transferencia en semiseco "Trans-Blot® SD Semi-Dry Transfer Cell" (Bio-Rad). Las condiciones de transferencia fueron 200 mA constantes durante 60 min. Se incubó la membrana con solución de bloqueo (leche 5%-PBS 1X-Tween 0.05 %) durante 2 h a 37 °C. Se realizaron 3 lavados (2 min c/u) con PBS 1X-Tween 0.05 %. Después se agregó el anticuerpo anti-His primario (1:5,000) y se incubó toda la noche a 4 °C. Se colocó la membrana en agitación constante por 20 min, luego se realizaron 3 lavados. Se agregó el anticuerpo secundario anti-IgG de ratón, conjugado con HRP (1:5,000), incubando a temperatura ambiente y

agitación constante durante 2 h. Finalmente, se realizaron tres lavados y se agregó la solución de revelado (5 mg HRP Color development Reagent Bio-Rad, 1.5 mL Metanol, 8.3 mL PBS 1X, 10 μ L H₂O₂).

Purificación de la proteína vNAR-T1/Trx mediante IMAC

El sobrenadante de la extracción que contenía la proteína vNAR-T1/Trx se purificó por cromatografía de afinidad a metales inmovilizados (IMAC), utilizando 2 mL de resina Ni-NTA (GE) equilibrada con 7 mL de solución de equilibrio (imidazol 20 mM, NaH₂PO₄ 50 mM, NaCl 300 mM, pH 8.0). Se colocó el sobrenadante de la extracción (imidazol 20 mM, pH de 8.0) en la columna, permitiendo el flujo por gravedad y se repitió cinco veces. Después se realizaron dos lavados, el primero con 7 mL de solución de lavado 1 (imidazol 20 mM, NaH₂PO₄ 50 mM, NaCl 300 mM, pH 8) y el segundo con 7 mL de solución de lavado 2 (imidazol 50 mM, NaH₂PO₄ 50 mM, NaCl 300 mM, pH 8). La elución se realizó con 500 μ L con solución de elución (imidazol 250 mM, NaH₂PO₄ 50 mM, NaCl 300 mM, pH 8). Se colectaron cinco eluciones en total y se almacenaron a -20 °C hasta su uso. Se repitió el proceso bajo las mismas condiciones para los extractos obtenidos de los tres experimentos de inducción: medio LB, TB y 2xYT, respectivamente.

Diálisis y cuantificación

Se realizó la diálisis de las alícuotas correspondientes a las eluciones 2 y 3, empleando 200 mL de PBS-1X por cada mL de muestra. Después, se cuantificó la proteína vNAR-T1/Trx dializada empleando el kit micro BCA Assay kit (Thermo Scientific) usando albúmina de suero bovino (BSA) como proteína de referencia.

Ensayos de reconocimiento

Para determinar si la proteína vNAR-T1/Trx expresada en *E. coli* BL21(DE3) mantenía el reconocimiento a TGF- β , se utilizó la isoforma 1 del TGF- β (PeproTech). Se colocaron 250 ng/pozo de citocina TGF- β 1 en una microplaca de 96 pozos (Thermo Scientific), en un volumen final de 50 μ L. Se incubó durante 2 h a 37 °C. Se colocaron 150 μ L de solución de bloqueo (3 % BSA-PBS 1X), incubando a 37 °C durante 1 h. La solución se descartó y se agregó un total de 8.475 μ g/ pozo de proteína vNAR-T1/Trx (purificada y dializada), en un volumen final de 50 μ L. Como control positivo de placa, se empleó una proteína con etiqueta de 6xHis. La placa se incubó toda la noche a 4 °C. Se realizaron tres lavados (2 min c/u) con PBS 1X-Tween 0.05 %.

Posteriormente, se agregaron 50 μ L del anticuerpo primario anti-His (Biotechne) a una concentración de 0.2 μ g/mL en 1% BSA-PBS 1X. En los pozos del control positivo se agregaron 50 μ L del anticuerpo de cabra Anti-TGF- β 1 diluido 1:200 en 1% BSA-PBS 1X en lugar de la proteína vNAR-T1/Trx. La placa se incubó durante 2 h a 37 °C. La solución se descartó y los pozos se lavaron tres veces con PBS 1X-Tween 0.05 % durante 2 min por lavado. Después se agregaron 50 μ L del anticuerpo anti-ratón conjugado con peroxidasa (Abcam, Ab97038) (1:10,000) en los pozos que contenían vNAR-T1 (por triplicado) y en los pozos del control positivo se agregó anti-IgG de cabra (1:1,000). La placa se incubó durante 2 h a 37 °C. Se realizaron tres lavados bajo las mismas condiciones. Finalmente, se añadieron 50 μ L de sustrato "TMB Liquid system for ELISA" (Merck Millipore). Se detuvo la reacción añadiendo 100 μ L de 500 mM ácido sulfúrico (H₂SO₄) después de 7 min. Se midió la absorbancia a 450 nm.

Digestión de vNAR-T1

Se realizaron 3 diluciones de enteroquinasa (5 IU/ μ L) definiendo una unidad de enteroquinasa como la cantidad de enzima necesaria para escindir 50 μ g de proteína fusionada con una eficiencia del 95% con incubación de ~16 h a 22 °C. Las diluciones usadas fueron de: 3 IU, 2 IU, 1 IU con un tampón de dilución de enteroquinasa (20 mM Tris-HCl, pH 7.4, 200 mM NaCl, 2 mM CaCl₂, 50% glicerol). Con lo anterior se prepararon las siguientes reacciones: 10 μ g de proteína vNAR-T1/Trx, 5 μ L tampón EK 10X (200 mM Tris-HCl, pH 7.4, 500 mM NaCl, 20 mM CaCl₂), 2 μ L de las diluciones de enteroquinasa 3 IU, 2 IU, 1 IU, agua mili Q hasta llevar la reacción a un volumen final de 50 μ L. Las muestras se homogenizaron e incubaron a 22 °C durante ~16 h. Las muestras digeridas se evaluaron en un gel SDS-PAGE al 15% teñido con azul de Coomassie, para determinar el mejor resultado de digestión con las distintas unidades de enzima.

Resultados y Discusiones

La construcción diseñada que contiene la secuencia codificante de vNAR-T1 se insertó entre los sitios de restricción NcoI y XhoI del plásmido pET32 α +. En la Figura 1, se muestran los resultados de la subclonación molecular en donde se evaluó el plásmido pET32 α + digerido con las enzimas de restricción NcoI y XhoI (Figura 9.1A). En el Carril 1, se muestra la digestión del plásmido pET32 α +, en el Carril 2, se muestra el control: plásmido pET32 α + sin digerir. Al mismo tiempo, se adicionaron los sitios de reconocimiento de las enzimas NcoI y XhoI en la secuencia

que codifica para el dominio vNAR-T1, mediante PCR punto final. El producto de PCR se empleó en una doble digestión enzimática con las enzimas NcoI y XhoI para generar extremos cohesivos. En la Figura 9.1B, se muestra la imagen del gel de agarosa al 0.8% donde se evaluó el vNAR-T1 digerido con las enzimas de restricción NcoI y XhoI. En el Carril 1, se observa el inserto vNAR-T1 con extremos cohesivos. Después de cortar y purificar el plásmido y el inserto se determinó la concentración, obteniendo 47.4 ng/μL del vector pET32α+ digerido y 33.4 ng/μL del vNAR-T1. Después de la reacción de ligación, se transfirió el plásmido recombinante en la cepa de clonación *E. coli* TOP10, como resultado, se obtuvieron colonias con resistencia a la ampicilina, lo que indica que las colonias presentan el plásmido pET32α+. Se eligieron aleatoriamente cinco colonias para corroborar la presencia del pET32α+/vNAR-T1 mediante PCR de colonia (Figura 9.1C). Se seleccionaron dos colonias positivas a pET32α+/vNAR-T1 para realizar la extracción de plásmido, para generar una alícuota de almacenamiento que contenga esta construcción.

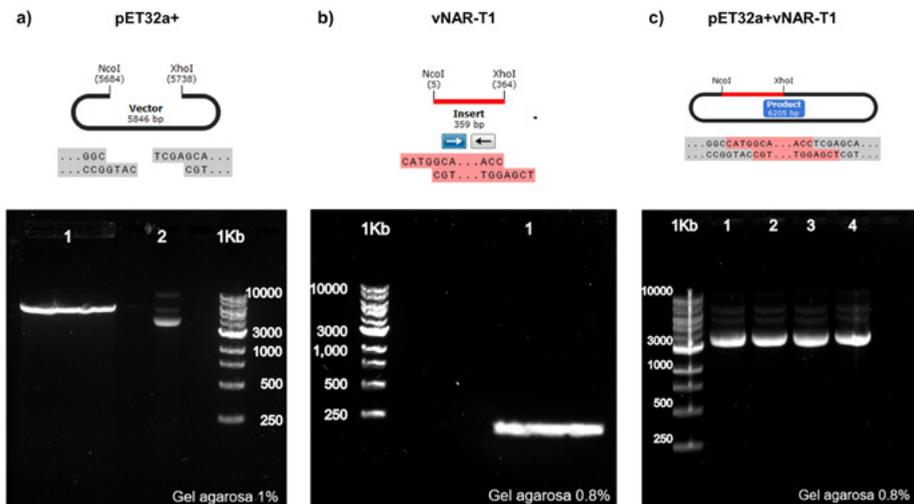


Figura 9.1. Sub-clonación molecular del dominio vNAR-T1 en el plásmido pET32β+. A) Vector pET32α+ digerido con las enzimas NcoI y XhoI. Carril 1= Vector pET32α+ digerido, Carril 2= Control de pET32α+ sin digerir, Carril 1Kb= Escalera Promega plus DNA leader. B) vNAR-T1 digerido con las enzimas NcoI y XhoI, en donde: Carril= 1Kb Ladder Invitrogen, Carril 1= Inserto digerido de vNAR-T1. c) Tamizaje de clonas transformadas con pET32α+/vNAR T1, mediante PCR de colonia, donde: Carril= 1Kb Escalera de Promega plus DNA leader, Carril 1= Colonia 2 (T1C2), Carril 2= Colonia 2.1 (T1C2.1), Carril 3= Colonia 3 (T1C3), Carril 4= Colonia 3.1 (T1C3.1).

Expresión e inmunodetección del dominio vNAR-T1

Las células de *E. coli* BL21(DE3) electrocompetentes se transformaron con el plásmido pET32 α +vNAR-T1. Se seleccionaron aleatoriamente colonias y se analizaron por PCR de colonia para corroborar la presencia del plásmido pET32 α +vNAR-T1. A partir de una colonia positiva (colonia 3) se realizó la producción de la proteína recombinante. Se realizaron tres experimentos de inducción con IPTG como inductor, para la producción del dominio vNAR-T1 en *E. coli* BL21(DE3), la variable de estos experimentos fue el medio de cultivo (LB, TB y 2xYT). Para examinar la distribución de la proteína se analizaron los extractos en condiciones nativas o desnaturalizantes mediante SDS-PAGE y Western Blot. El resultado mostró la presencia de una banda específica de ~29 kDa (~15 kDa vNAR-T1 + ~14 kDa Trx), lo que indica que se expresó la proteína vNAR-T1/Trx (Figura 9.2A) y puede ser extraída en condiciones solubles e insolubles. Este resultado coincide con otros reportes donde emplearon el vector pET32 α + para la expresión heteróloga de la isoforma más pequeña de interleucina-24 (IL-24) en *E. coli* BL21(DE3) (Valiyari et al., 2017). Además, la expresión de la proteína vNAR-T1/Trx en la fracción insoluble es independiente del medio de cultivo utilizado. Este resultado difiere de otros informes en donde la Trx favorecía la expresión de proteínas ribosomales humanas en fracción soluble empleando la misma cepa de *E. coli* (Correddu et al., 2019).

La Figura 9.2B, corresponde a la inmunodetección de la proteína vNAR-T1/Trx con el anticuerpo anti-histidina. La proteína vNAR-T1/Trx es señalada con la flecha (~29 kDa) además, se puede observar una señal colorimétrica en ~58 kDa, es probable que corresponda a la formación de homodímeros de la proteína vNAR-T1/Trx.

Se emplearon las fracciones solubles para la purificación y los ensayos de reconocimiento donde se evaluó si el vNAR-T1 fusionado con la TrxA conservaba el reconocimiento del TGF- β .

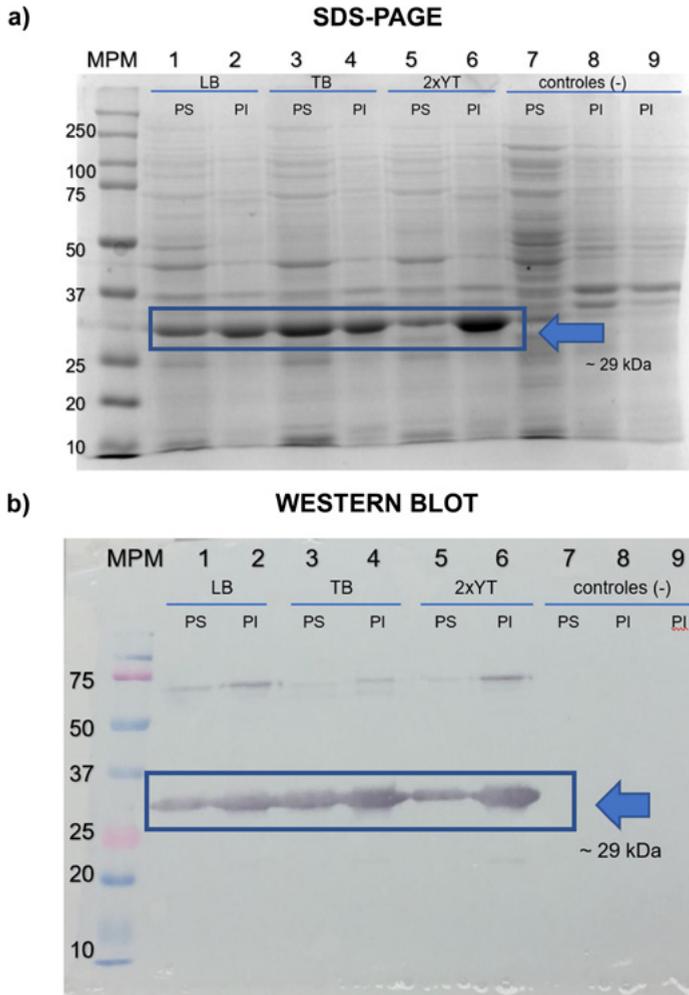


Figura 9.2 Análisis de los ensayos de expresión de proteínas vNAR-T1/Trx en *E. coli* BL21 (DE3), mediante A) SDS-PAGE y B) Western blot. En donde, carril 1= Proteína soluble (PS) en medio LB, carril 2= Proteína insoluble (PI) en medio LB, carril 3= PS en medio TB, carril 4= PI en medio TB, carril 5= PS en medio 2xYT, carril 6= PI en medio 2xYT, Carril 7= Control negativo proteína soluble (cepa *E. coli* BL21(DE3) sin inserto de interés en medio LB), carril 8= Control negativo proteína insoluble en medio LB, carril 9: control negativo proteína insoluble en medio 2xYT.

Purificación de la proteína vNAR-T1/Trx

Una vez que se corroboró la expresión de la proteína, se realizó la purificación del extracto proteico que contenía la proteína vNAR-T1/Trx. La presencia de la etiqueta 6xHis en la proteína recombinante permitió la purificación mediante IMAC, obteniendo al final del proceso cinco eluciones de cada experimento que se evaluaron en un gel de poliacrilamida al 12% (Figura 9.3). La flecha azul señala la proteína vNAR-T1/Trx con un peso aproximado entre ~29 kDa. La Figura 9.3A, corresponde a la purificación de la proteína vNAR-T1/Trx expresada por *E. coli* BL21(DE3) en el medio LB, donde se observó que la mayor cantidad de proteína se recupera en las eluciones E2 y E3, y que se remueven gran parte de las proteínas endógenas de *E. coli* BL21(DE3).

Por otra parte, la Figura 9.3B muestra la purificación de la proteína vNAR-T1/Trx expresada en el medio TB. Se observan las bandas que corresponden a la proteína de interés (~29 kDa) señalada con una flecha azul. En las eluciones 2, 3 y 4 se observó más intensidad en la banda de la proteína vNAR-T1/Trx, en la elución 2 también hay bandas accesorias de menor peso molecular. De manera similar, la Figura 9.3C muestra la purificación de la proteína vNAR-T1/Trx expresada por *E. coli* BL21(DE3) en el medio 2xYT, indicando con la flecha a la proteína vNAR-T1/Trx en las eluciones 2, 3 y 4, donde se observa la banda con mayor intensidad. Sin embargo, en la elución 2 también se observan proteínas accesorias, evidenciando que la purificación aún puede optimizarse.

Al emplear el medio 2xYT, se favoreció la producción de la proteína recombinante, en comparación con la proteína obtenida en los medios LB y TB, no obstante, se observó que el proceso de purificación presenta puntos de mejora, pues el resultado indica que la columna se satura y las bandas accesorias no han sido removidas por completo.

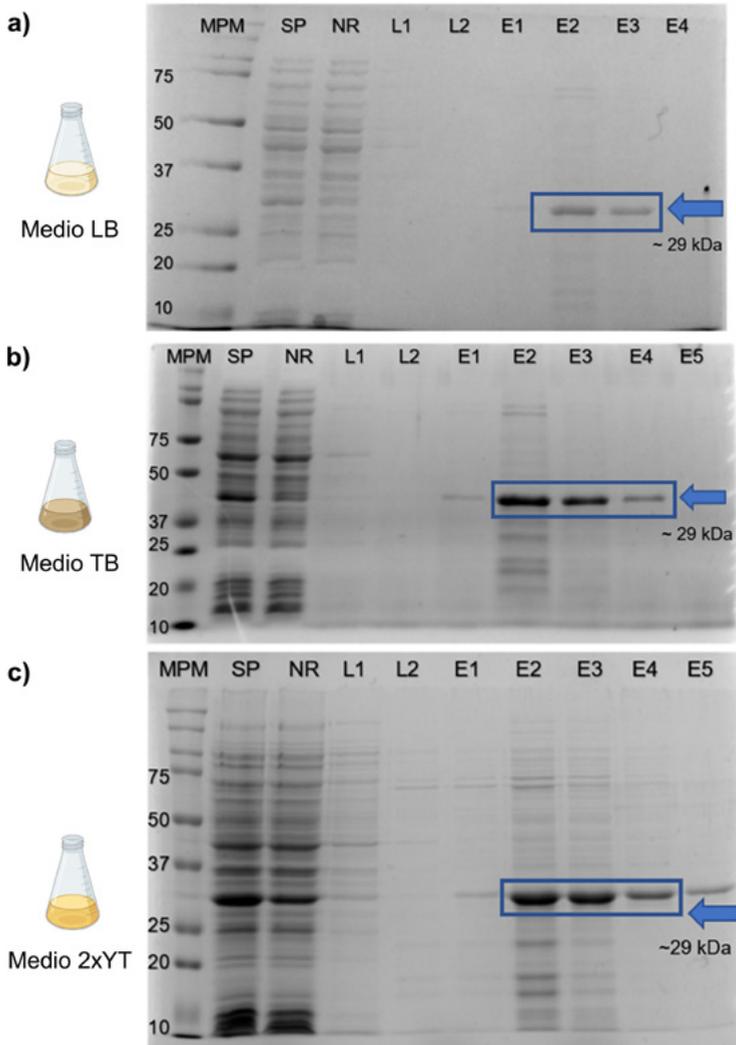


Figura 9.3 Expresión de la proteína vNAR-T1/Trx, empleando diferentes medios de cultivo: A) medio LB, B) medio TB y C) medio 2xYT. En donde, Carril MPM= Precision plus protein™ standards (dual color), Carril SP= Proteína sin purificar, Carril NR= Proteína no retenida en la columna, Carril L1= Lavado 1, Carril L2= Lavado 2, Carril E1-E5= Eluciones 1-5.

Se seleccionaron las eluciones E2 y E3 para realizar la diálisis, cuantificación y posteriores ensayos. El rendimiento de vNAR-T1/Trx obtenido fue de 0.922 mg/L, 3.716 mg/L y 5.877 mg/L al emplear los medios LB, TB y 2xYT, respectivamente. Este resultado muestra que al emplear el medio 2xYT para la producción de la proteína recombinante, se aumenta el rendimiento 6.4 veces en comparación con la inducción realizada en el medio LB.

Ensayo de reconocimiento

Se analizó el reconocimiento de la proteína vNAR-T1/Trx contra TGF- β 1 empleando un ensayo basado en ELISA, como control negativo se colocó BSA al 3%. El control positivo consistió en el uso de un anticuerpo monoclonal anti-TGF- β de cabra. En la Figura 9.4A se presenta el valor de absorbancia promedio de cada tratamiento y la desviación estándar se muestra con las barras del error. Como se observa, la proteína vNAR-T1/Trx reconoce al TGF- β 1 con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.001$) respecto al control negativo de BSA 3%. Previamente se evaluó el reconocimiento del vNAR-T1 por las tres isoformas de TGF- β , sin embargo, para la proteína vNAR-T1/Trx aún es necesario realizar el ensayo de reconocimiento contra las isoformas TGF- β 2 y TGF- β 3. Una estrategia similar a la que presentamos fue reportada por Henry y colaboradores, quienes aislaron un VHH de camélido, sin embargo, este VHH reconoce únicamente a TGF- β 3 (Henry et al., 2016).

En la Figura 9.4B, se analizó la digestión de enteroquinasa realizada con distintas unidades de enzima (1 IU, 2 IU y 3 IU) para eliminar la proteína chaperona Trx y liberar el vNAR-T1. La flecha azul señala a la proteína sin digerir (~29 kDa). La proteólisis de vNAR-T1/Trx resultó en dos proteínas: vNAR-T1 (~15 kDa) y Trx (~14 kDa). La flecha verde señala el vNAR digerido.

De acuerdo con lo observado, aún es posible mejorar las condiciones de digestión con enterocinasa, ya que no se logró digerir el 100% de la proteína y es posible que se requieran más de tres unidades de enzima para obtener una mejor digestión.

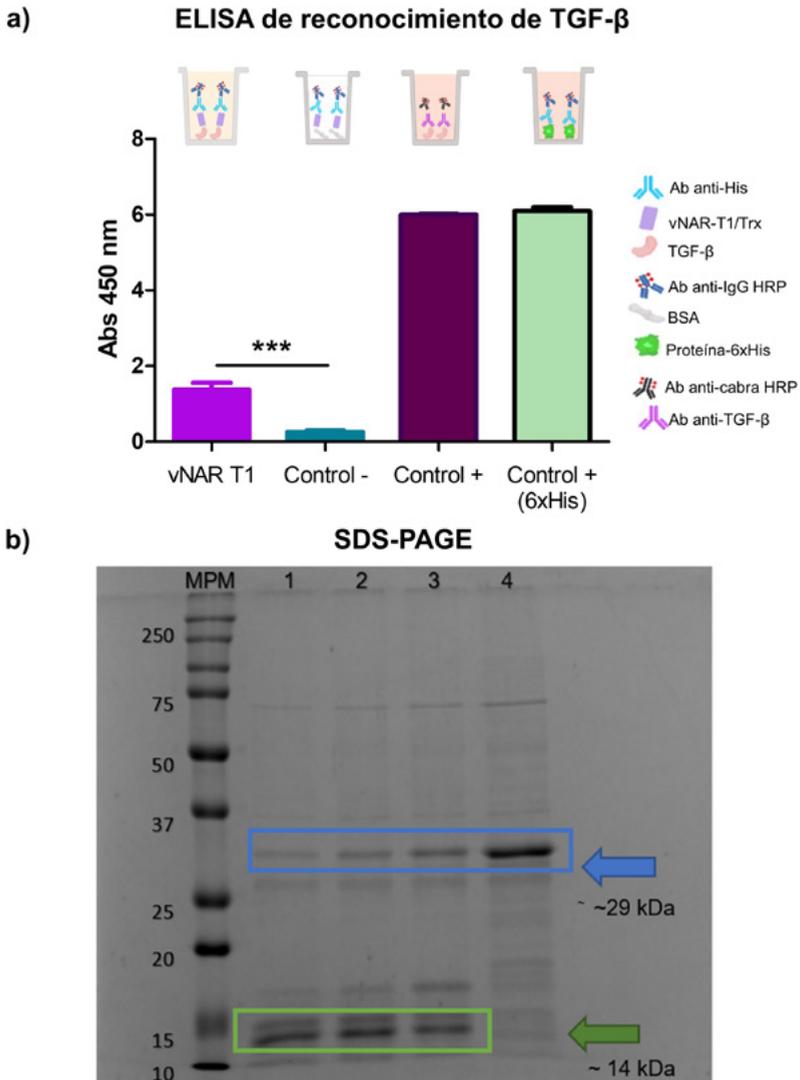


Figura 9.4 A) ELISA de reconocimiento del TGF- β . Se representan los valores promedio de tres replicas biológicas, las barras del error indican las desviaciones estándar. ANOVA de una vía seguido de una prueba de comparación múltiple de Turkey, $p < 0.001$. B) Análisis de la digestión con Enteroquinasa. Carril MPM: Precision plus protein™ standars (dual color), Carril 1: Reacción con 3IU, carril 2: Reacción con 2IU, Carril 3: Reacción con 1IU, Carril 4: Control negativo (tampón sin enzima).

Conclusiones

En el presente trabajo, se demostró que la adición de la proteína chaperona tioredoxina al vNAR-T1 mejoró el rendimiento y producción en un sistema heterólogo de *E. coli* usando el plásmido pET32 α +. Se obtuvieron mejor expresión de la proteína vNAR T1-Trx y rendimiento cuando se utilizó el medio 2xYT (5.877 mg/L), que representó un incremento de 6.4 veces respecto a medio LB. En el ensayo de ELISA, se demostró que el vNAR T1 conservó el reconocimiento por la citocina TGF- β 1 cuando se encontraba fusionado con Trx. Nuestros resultados de rendimiento y reconocimiento específico demuestran que la construcción pET32 α +/vNAR-T1 en la cepa *E. coli* BL21(DE3) en medio 2XYT, inducido con IPTG permite la producción rápida del dominio vNAR-T1. La optimización en los rendimientos de producción de un dominio vNAR anti TGF- β favorecerá el desarrollo de proyectos con incidencia en salud humana, donde este factor de crecimiento se vea desregulado, con aplicaciones en modelos in vivo, in vitro o asociado a sistemas de detección y monitoreo como biosensores o sistemas en el punto de atención (PoC).

Agradecimientos

Burciaga-Flores M., agradece a CONACYT por la beca otorgada durante su Maestría, Fuentes-Medina E., agradece a CIATEJ por la beca otorgada durante su Licenciatura. Agradecemos la donación del vector pET32 α + al Dr. Gutiérrez-Ortega A., y la colaboración constante del Dr. Licea-Navarro A.

Referencias

1. Alfaleh, M. A., Alsaab, H. O., Mahmoud, A. B., Alkayyal, A. A., Jones, M. L., Mahler, S. M., & Hashem, A. M. (2020). Phage Display Derived Monoclonal Antibodies: From Bench to Bedside. *Front Immunol*, 11, 1986. doi:10.3389/fimmu.2020.01986
2. Bedinger, D., Lao, L., Khan, S., Lee, S., Takeuchi, T., & Mirza, A. M. (2016). Development and characterization of human monoclonal antibodies that neutralize multiple TGFbeta isoforms. *MAbs*, 8(2), 389-404. doi:10.1080/19420862.2015.1115166
3. Cheong, W. S., Leow, C. Y., Abdul Majeed, A. B., & Leow, C. H. (2020). Diagnostic and therapeutic potential of shark variable new antigen

- receptor (VNAR) single domain antibody. *Int J Biol Macromol*, 147, 369-375. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.01.039
4. Correddu, D., Montano Lopez, J. J., Vadakkedath, P. G., Lai, A., Pernes, J. I., Watson, P. R., & Leung, I. K. H. (2019). An improved method for the heterologous production of soluble human ribosomal proteins in *Escherichia coli*. *Sci Rep*, 9(1), 8884. doi:10.1038/s41598-019-45323-8
 5. English, H., Hong, J., & Ho, M. (2020). Ancient species offers contemporary therapeutics: an update on shark VNAR single domain antibody sequences, phage libraries and potential clinical applications. *Antib Ther*, 3(1), 1-9. doi:10.1093/abt/tbaa001
 6. Gonzalez-Junca, A., Reiners, O., Borrero-Garcia, L. D., Beckford-Vera, D., Lazar, A. A., Chou, W., . . . Barcellos-Hoff, M. H. (2020). Positron Emission Tomography Imaging of Functional Transforming Growth Factor beta (TGFbeta) Activity and Benefit of TGFbeta Inhibition in Irradiated Intracranial Tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. doi:10.1016/j.ijrobp.2020.09.043
 7. Hafez, M. M., Hamed, S. S., El-Khadragy, M. F., Hassan, Z. K., Al Rejaie, S. S., Sayed-Ahmed, M. M., . . . Alsharari, S. D. (2017). Effect of ginseng extract on the TGF-beta1 signaling pathway in CCl4-induced liver fibrosis in rats. *BMC Complement Altern Med*, 17(1), 45. doi:10.1186/s12906-016-1507-0
 8. Henry, K. A., Hussack, G., Collins, C., Zwaagstra, J. C., Tanha, J., & MacKenzie, C. R. (2016). Isolation of TGF-beta-neutralizing single-domain antibodies of predetermined epitope specificity using next-generation DNA sequencing. *Protein Eng Des Sel*, 29(10), 439-443. doi:10.1093/protein/gzw043
 9. Liu, Z. Q., & Yang, P. C. (2012). Construction of pET-32 alpha (+) Vector for Protein Expression and Purification. *N Am J Med Sci*, 4(12), 651-655. doi:10.4103/1947-2714.104318
 10. Pothin, E., Lesuisse, D., & Lafaye, P. (2020). Brain Delivery of Single-Domain Antibodies: A Focus on VHH and VNAR. *Pharmaceutics*, 12(10). doi:10.3390/pharmaceutics12100937
 11. Sehlin, D., Stocki, P., Gustavsson, T., Hultqvist, G., Walsh, F. S., Rutkowski, J. L., & Syvänen, S. (2020). Brain delivery of biologics using a cross-species reactive transferrin receptor 1 VNAR shuttle. *The FASEB Journal*, 34(10), 13272-13283. doi:https://doi.org/10.1096/fj.202000610RR
 12. Song, K. M., Chung, D. Y., Choi, M. J., Ghatak, K., Minh, N. N., Limanjaya, A., . . . Suh, J. K. (2020). Vactosertib, a Novel, Orally Bioavailable Activin Receptor-Like Kinase 5 Inhibitor, Promotes Regression of Fibrotic Plaques in a Rat Model of Peyronie's Disease. *World J Mens Health*, 38(4), 552-563. doi:10.5534/wjmh.190071

13. Stocki, P., Szary, J. M., Jacobsen, C. L. M., Demydchuk, M., Northall, L., Moos, T., . . . Rutkowski, J. L. (2019). High efficiency blood-brain barrier transport using a VNAR targeting the Transferrin Receptor 1 (TfR1). *bioRxiv*, 816900. doi:10.1101/816900
14. Takahashi, K., Akatsu, Y., Podyma-Inoue, K. A., Matsumoto, T., Takahashi, H., Yoshimatsu, Y., . . . Watabe, T. (2020). Targeting all transforming growth factor-beta isoforms with an Fc chimeric receptor impairs tumor growth and angiogenesis of oral squamous cell cancer. *J Biol Chem*, 295(36), 12559-12572. doi:10.1074/jbc.RA120.012492
15. Teicher, B. A. (2020). TGFbeta-Directed Therapeutics: 2020. *Pharmacol Ther*, 107666. doi:10.1016/j.pharmthera.2020.107666
16. Tillib, S. V. (2020). Prospective Applications of Single-Domain Antibodies in Biomedicine. *Mol Biol (Mosk)*, 54(3), 362-373. doi:10.31857/S0026898420030167
17. Valiyari, S., Mahdian, R., Salami, M., Oloomi, M., Golshani, M., Shokrgozar, M. A., & Bouzari, S. (2017). Expression, Purification and Functional Assessment of Smallest Isoform of Human Interleukin-24 in *Escherichia coli*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 60. Retrieved from http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-89132017000100307&nrm=iso
18. Wang, Y., Fan, Z., Shao, L., Kong, X., Hou, X., Tian, D., . . . Yu, L. (2016). Nanobody-derived nanobiotechnology tool kits for diverse biomedical and biotechnology applications. *Int J Nanomedicine*, 11, 3287-3303. doi:10.2147/IJN.S107194
19. Wick, A., Desjardins, A., Suarez, C., Forsyth, P., Gueorguieva, I., Burkholder, T., . . . Rodon, J. (2020). Phase 1b/2a study of galunisertib, a small molecule inhibitor of transforming growth factor-beta receptor I, in combination with standard temozolomide-based radiochemotherapy in patients with newly diagnosed malignant glioma. *Invest New Drugs*, 38(5), 1570-1579. doi:10.1007/s10637-020-00910-9
20. Yu, C., & Jeremy, R. W. (2018). Angiotensin, transforming growth factor beta and aortic dilatation in Marfan syndrome: Of mice and humans. *Int J Cardiol Heart Vasc*, 18, 71-80. doi:10.1016/j.ijcha.2018.02.009
21. Zhang, L., Yu, Z., Muranski, P., Palmer, D. C., Restifo, N. P., Rosenberg, S. A., & Morgan, R. A. (2013). Inhibition of TGF-beta signaling in genetically engineered tumor antigen-reactive T cells significantly enhances tumor treatment efficacy. *Gene Ther*, 20(5), 575-580. doi:10.1038/gt.2012.75
22. Zheng, S., Jia, Q., Shen, H., Xu, X., Ling, J., Jing, C., & Zhang, B. (2017). Treatment

- with the herbal formula Songyou Yin inhibits epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma through downregulation of TGF-beta1 expression and inhibition of the SMAD2/3 signaling pathway. *Oncol Lett*, 13(4), 2309-2315. doi:10.3892/ol.2017.5700
23. Zielonka, S., Empting, M., Grzeschik, J., Konning, D., Barelle, C. J., & Kolmar, H. (2016). Structural insights and biomedical potential of IgNAR scaffolds from sharks. *MAbs*, 7(1), 15-25. doi:10.4161/19420862.2015.989032

Factibilidad y diseño de un proceso biocatalítico para la producción de un biopolímero a base de residuos de cutícula de jitomate

Mora Cortés B. I.¹, Peña Montes C.^{1a}, Reyes Duarte D.^{2a}

¹ Tecnológico Nacional de México campus Veracruz. Unidad de Investigación y Desarrollo en Alimentos (UNIDA). Laboratorio de Genética Aplicada. Ver., Veracruz, México, CP 91897.

² Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Cuajimalpa. Departamento de Procesos y Tecnología. CDMX, México, CP 05348.

^a Autor de correspondencia: carolina.pm@veracruz.tecnm.mx, dreyes@cua.uam.mx

Palabras claves: biopolímero, cutinasa, cutícula, jitomate

Resumen

Anualmente en el mundo, se producen cerca de 400 millones de toneladas de plásticos (Giacovelli, 2018; Lebreton y Andrady, 2019), de las cuales casi un trillón de bolsas de plástico de un solo uso se utiliza cada año, es decir, cerca de dos millones por minuto (Earth-Policy-Institute, 2014). Los desechos como bolsas comunes de plástico tardan desde 5 hasta más de 2500 años en degradarse, mientras que una botella de PET tarda 2500 años aproximadamente, esto dependiendo de las condiciones ambientales a las que está expuesto el residuo para su degradación, ya sea terrestre o marino (Fundacion-Aquae, 2020; Chamas *et al.*, 2020).

En el presente trabajo se realizó una propuesta teórica para la producción de un biopolímero a partir de cutícula de jitomate y ácido láctico, enfocándolo a la producción de bolsas con potencial biodegradable.

La primera etapa retoma la obtención de ácidos grasos hidroxilados a partir de la cutícula de jitomate (hidrolizado de cutícula), y la síntesis de biopolímeros a partir del hidrolizado de la cutícula y ácido láctico, catalizada por cutinasas. En la segunda etapa se generó una estimación de residuos de dicho vegetal a nivel nacional, junto con un balance de masa de la obtención de la cutícula de jitomate y simulaciones de acoplamiento molecular (“docking”) para comprobar teóricamente la síntesis del biopolímero.

Introducción

Los biopolímeros, como se conoce a los polímeros derivados de recursos naturales renovables, se pueden clasificar en tres grupos: los extraídos directamente de biomasa (como almidón, celulosa o quitosano), los obtenidos como producto de la fermentación de los microorganismos (como celulosa bacteriana o polihidroxialcanoatos-PHAs), y los obtenidos por síntesis a partir de monómeros derivados de biomasa o de aceites (como el ácido poliláctico-PLA o policaprolactona-PCL) (Fabra, López-Rubio, & Lagaron, 2014). La Asociación Europea de Bioplásticos (EUBP) define a éstos como los plásticos elaborados con materiales biodegradables o los producidos de fuentes renovables. Es importante recordar que los plásticos son polímeros comprimidos con un alto peso molecular, ligeros, higiénicos y resistentes que se pueden moldear de distintas maneras y utilizar en una amplia gama de aplicaciones. La mayoría de los plásticos no se biodegradan, pero si pueden degradarse por acción mecánica, térmica, química o descomponerse con la luz, obteniéndose lentamente pequeños fragmentos conocidos como microplásticos (Giacovelli, 2018). La degradación de los bioplásticos es más rápida que la de los plásticos convencionales (por ejemplo, PLA vs. polietileno: 11 meses vs. 500 años) y depende tanto de su estructura física y química en términos de cadenas poliméricas, grupos funcionales y cristalinidad como de las condiciones ambientales a las cuales están expuestos (humedad, oxígeno, temperatura y pH). Esta degradación puede realizarse por descomposición aeróbica o anaeróbica por acción de microorganismos o enzimas de los microorganismos bajo condiciones normales del medio ambiente, y la presencia de enlaces éster, amida o carbonatos hidrolizables incrementan la susceptibilidad de degradación (Coppola et al., 2021; Valero-Valdivieso, Ortegón, & Uscategui, 2013).

Anualmente se producen aproximadamente en el mundo 400 millones de toneladas de plásticos, cuyos residuos se encuentran distribuidos de la siguiente manera: un 79% se encuentra en vertederos, basureros o en el medio ambiente, 12% es incinerado y solo el 9% es reciclado, terminando entre 8 a 12 millones de toneladas aproximadamente en los océanos (Geyer, Jambeck, & Law, 2017; Giacovelli, 2018; Lebreton y Andrady, 2019). La acumulación de residuos plásticos representa un grave problema de contaminación, ambiental que se agrava aún más considerando que los tiempos de degradación de estos polímeros sintéticos en la naturaleza son prolongados. En la tabla 10.1, se muestran algunos ejemplos de tiempos de degradación de materiales plásticos.

Tabla 10.1 Ejemplos de tiempo de degradación de plásticos y bioplásticos.

Residuo	Tiempo estimado de degradación
Botellas de plástico (tereftalato de polietileno)	100 a 2500 años
Vasos desechables	1000 años
Bolsas de plástico	150-600 años
Unisel	Mas de 2500 años
Bolsas biodegradables (biomasa)	90-240 días
Bolsas oxobiodegradables	2-3 años
Recipientes para alimentos (caña de azúcar, paja de trigo, fécula de maíz)	90-300 días

Información de: (Muñoz García & Ramírez Bobadilla, 2018; Chamas *et al.*, 2019)

Recientemente se han propuesto soluciones a esta problemática, siendo una de estas la generación de nuevos polímeros biodegradables, la cual es un área que está en constante crecimiento (Rahman, M. H. y Bhoj, P.R., 2021). Es importante mencionar, que muchos de los bioplásticos se obtienen de productos de una agricultura altamente industrializada como el maíz o la papa, que implica destinar por ahora un 0.2% del área agrícola para la producción del bioplástico en lugar de la alimentación, y se espera que esta proporción crezca en los próximos años. Adicionalmente, esto provoca escasez de agua, extinción de especies, desertificación y pérdida de hábitat natural; por lo que incrementar el cultivo de materias primas agrícolas no está generando una opción para producir plástico ecológico (Mederake, L. *et al.*, 2019). Por lo tanto, en el presente trabajo se realiza una propuesta teórica para la producción de un biopolímero a partir de cutícula de residuos de jitomate y ácido láctico, enfocándolo a la producción de bolsas con potencial biodegradable.

Desarrollo

El residuo vegetal propuesto en este proyecto es la cutícula o membrana cuticular de jitomate, la cual es una membrana continua extracelular de lípidos solubles y polimerizados, que cubre la pulpa del jitomate, *Solanum lycopersicum*, un fruto

perteneciente a la familia *Solanaceae* (Guala y Döring, 2020) y se encuentra en contacto con el medio ambiente (Arrieta-Baez, *et al.*, 2011). De acuerdo con su composición química, las cutículas suelen dividirse en dos grupos: cutinas y suberinas (Gómez-Patiño *et al.*, 2012).

La estructura intermolecular de la cutina no es la misma en todas las especies (Figura 10.1) ya que la formación del poliéster está coordinada, en última instancia, por el número y la posición de los grupos funcionales esterificables (Heredia, 2003). La estructura intermolecular del monómero de la cáscara del jitomate es ácido 10,16-dihidroxihexadecanoico (Figura 10.2) (Gómez-Patiño *et al.*, 2013).

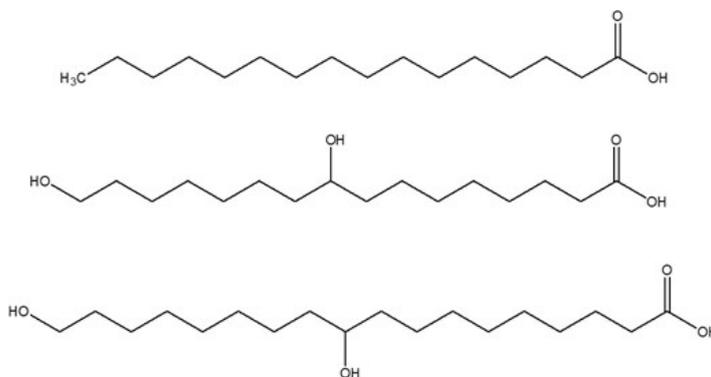


Figura 10.1 Ejemplos de monómeros que conforman la red polimérica de la cutina (Tomada de (Gómez-Patiño *et al.*, 2012)

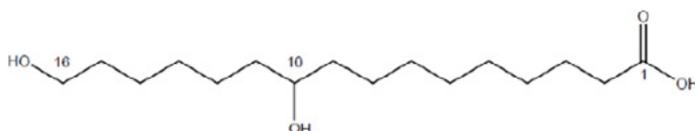


Figura 10.2 Estructura del monómero de la cáscara del jitomate, ácido 10,16-dihidroxihexadecanoico (Gómez-Patiño *et al.*, 2012).

Según los estudios de Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA), que recolectan información de diferentes organizaciones como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura o “Food and Agriculture Organization Of The United Nations” (FAO por sus siglas en inglés), el país que ocupó la novena posición en el mercado internacional en la producción del jitomate fue México, sin embargo es el primer país exportador de jitomate a nivel mundial, seguido de Países Bajos y España en el 2017 (FIRA, 2019).

Reafirmando los estudios de FIRA y FAO, de acuerdo con la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), el principal proveedor a nivel mundial de jitomate es México (SAGARPA, 2017), a pesar de ser uno de los productos agrícola de mayor producción ya que es un fruto sumamente perecedero que requiere de transportación rápida y eficiente. Esto es un factor inconveniente para los productores, debido a las pérdidas de producción que esto implica. Una solución para dichas pérdidas es la utilización de estos desechos de jitomate para la producción de materiales biodegradables como los bioplásticos.

El uso de los residuos de vegetales o agro residuos va teniendo cada vez más impacto, y ya existen bioplásticos generados basados en residuos de frutales utilizando diferentes polímeros, donde el más utilizado en la producción de películas biodegradables es el almidón por ser abundante, barato, de gran disponibilidad y biodegradable en muchos entornos (Sepúlveda L. *et al.*, 2016).

En la producción de bioplásticos, se emplea el almidón obtenido de los residuos frutales y vegetales, utilizando como aditivo común la glicerina, pero se pueden generar dichos biopolímeros empleando enzimas por medio de síntesis enzimática. Cabe destacar, que el consumo energético de los procesos de dichas síntesis es mucho menor, ya que la temperatura óptima de trabajo de las enzimas se encuentra entre 25-65°C, frente a los 180-230°C a los que tienen lugar las reacciones convencionales de obtención de estos polímeros (Martí, Ferrero y Verdejo, 2020).

El 2-hidroxiopropanoico o ácido láctico (Figura 10.3), es un líquido con consistencia de jarabe, incoloro, soluble en éter, miscible con agua y alcohol e insoluble en cloroformo, éter de petróleo y disulfuro de carbono o un sólido de punto de fusión bajo en estado puro (Herryman y Blanco, 2005). Es un compuesto muy versátil utilizado en industrias química, farmacéutica, de alimentos y del plástico. El ácido láctico es polimerizado en presencia de solventes para producir ácido poliláctico (APL) de alto peso molecular.

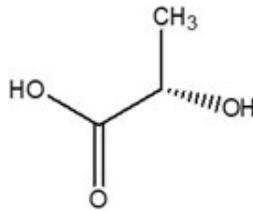


Figura 10.3 Estructura química del ácido láctico (AL)

La unión del AL con los biopolímeros de la cutina de jitomate es para generar una mayor resistencia hidrofóbica y de tensión en la creación de las películas biodegradables.

Las enzimas a explorar que pueden llevar a cabo la reacción enzimática son las cutinasas, como la que produjo Vázquez (2018) clonando el gen *mrcut1* en *Escherichia coli*. Esta enzima tiene la capacidad de degradar poliésteres como el politereftalato de etileno (PET), pesticidas, polímeros que constituyen de la pared celular, así como la cutícula y cutina. Siguiendo la termodinámica de las reacciones, si la enzima puede hacer la hidrólisis, también sería capaz de hacer la síntesis (Vázquez-Alcántara, 2018). Otro ejemplo es la cutinasa 4PSC de *Trichoderma reesei*, de la cual ya se conoce su estructura y que comparte un 43.96% de similitud con MRCUT1 (Roussel A. et. AL., 2014). Por lo anterior el proyecto consiste en diseñar la síntesis enzimática de un bioplástico obtenido a partir de cutícula de jitomate y PLA con cutinasas como la MRCUT1 y la 4 PSC de *T. reesei*. Dado que la estructura molecular de la cutinasa 4PSC ya ha sido determinada por cristalografía, este sirvió como base para establecer un modelo estructural para MRCUT1, el cual fue validado y demostró que los sitios activos de ambas enzimas son similares, por lo que en el presente trabajo se utilizó la enzima 4PSC para los ensayos de acoplamiento molecular (Roussel A. et al., 2014).

En cuanto a las normas que debe cumplir el bioplástico que se genere, tenemos las cuatro siguientes:

1. NMX-E-260-CNCP-2014, la cual se encarga de establecer los términos relacionados con materiales bioplásticos;
2. ASTM D6400 – 19, se encarga de la especificación estándar para el etiquetado de plásticos diseñados para compostaje aeróbico en instalaciones municipales o industriales;

3. EN 13432 de 2002, esta norma estipula una serie de pruebas para determinar si un material es biodegradable, como degradarse como mínimo un 90% en 6 meses si es sometido a un ambiente rico en dióxido de carbono, entre otras;
4. ISO 17088: 2012, aborda los cuatro aspectos sobre compostabilidad, los cuales son: biodegradación, desintegración durante el compostaje, efectos negativos sobre la instalación y proceso de compostaje y efectos negativos sobre la calidad del compuesto resultante.

Utilidad de los biopolímeros en la industria alimentaria.

Los recursos renovables, su uso y la biodegradabilidad del producto se consideran los nuevos requisitos para disminuir el impacto ambiental ocasionado por la acumulación de materiales sintéticos (Rodríguez, 2012).

Un ejemplo donde se pueden implementar el uso de los biopolímeros es en la industria de envases, ya que los desechos generados por ésta son una problemática, los biopolímeros pueden ser utilizados para desarrollar bioplásticos que permitan diseñar envases biodegradables, con un bajo impacto ambiental (Villalobos, 2015).

El uso de biopolímeros es una alternativa en la industria alimentaria que genera plásticos de un solo uso que causan contaminación y al ser estos degradables ayudan a disminuir dicho problema (Hernández y Guzmán, 2009).

Metodología

Estudio de mercado.

Producción mundial del jitomate. Utilizando los datos de páginas oficiales sobre importación y exportación mundial, se crean graficas de la producción de los principales países agrícolas de jitomate (%), ubicando donde se posiciona México en dicha producción, si es un importador de que países recibe jitomate o exportador a que país envía jitomate.

Producción nacional del jitomate. Usando los datos de páginas oficiales del gobierno de México sobre importación y exportación nacional,

se generan gráficas de la producción de los principales estados agrícolas de jitomate (Ton), ubicando donde se posiciona el estado con mayor producción en México.

Histórico producción nacional. Se realiza una búsqueda histórica del crecimiento en la producción del jitomate en México, si ha decrecido o aumentado durante el intervalo de una década registrada (Ton).

Producción por estados. De acuerdo con los datos obtenidos de las páginas oficiales de México sobre la producción dentro de dicho país, se crean gráficas de dicha producción de todos los estados que cultiven jitomate, ubicando los principales estados agrícolas de la República Mexicana (Ton); una vez localizado el estado con mayor actividad agrícola, se plantea la idea de donde instalar la planta productora de biopolímeros.

Ubicación de planta de bioplástico.

Con base a los datos obtenidos, se propone la mejor ubicación de la planta de bioplásticos, que permita asegurar una afluencia de residuos de jitomate para la producción de biopolímeros y el desarrollo de bioplásticos con cutina de jitomate en México.

Proceso de producción de bioplástico.

Extracción química-enzimática y balance de masa teórico. Con base a la literatura, se realiza una recolección de información sobre el procedimiento de la extracción y obtención del hidrolizado del jitomate, de acuerdo con trabajos ya existentes, para generar un producto teórico y se calcula un balance de masa teórico para la planta productora de bioplásticos, con el fin de obtener los porcentajes de producción, pérdidas y ganancias de dicha planta, con el fin de ver la factibilidad de éste.

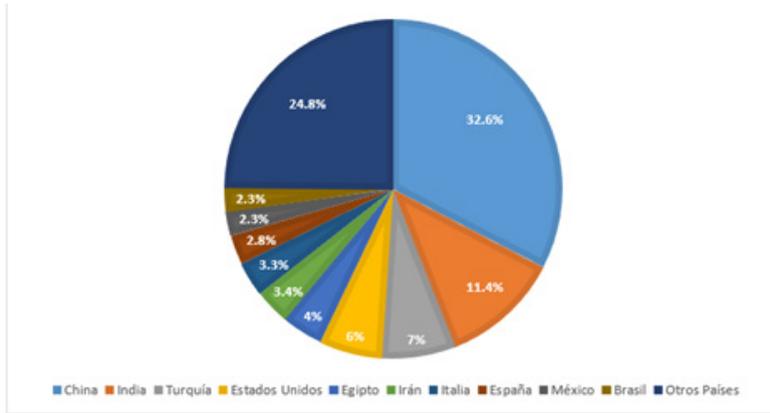
Reacción enzimática teórica. Se generan diseños teóricos de reacciones enzimáticas por medio de "docking", en las cuales se toman en cuenta las diferentes mezclas teóricas con los solventes, el hidrolizado y el ácido láctico. El proceso de acoplamiento molecular o "docking" es un método "in silico" basado en la estructura, que permite describir la forma en que

una molécula interacciona con otra para formar un complejo estable en un espacio tridimensional. Es un método computacional que se utiliza para identificar las posiciones correctas de los ligandos en un sitio de unión (*binding site*) para así predecir la afinidad entre el ligando y la proteína. Es decir, nos permite predecir interacciones ligando-objetivo a nivel molecular, o delinear las relaciones estructura-actividad (SAR), sin conocer *a priori* la estructura química de otros moduladores de la diana. Aunque originalmente se desarrolló para ayudar a comprender los mecanismos de reconocimiento molecular entre moléculas pequeñas y grandes, los usos y aplicaciones del “docking” en el descubrimiento, por ejemplo de fármacos, ha cambiado mucho en los últimos años (Pinzi, L. y Rastelli, G., 2019). Este proceso ayuda también a generar simulaciones del comportamiento molecular de una enzima en un medio ya determinado. La herramienta (molecular docking) es un método muy conveniente y de bajo costo para entender el mecanismo de reacción de las enzimas con los ligandos con una gran precisión (Lui *et al.*, 2018).

Diseño de la planta y esquema del proceso. Se desarrolla un diagrama de flujo sobre los diferentes procesos de acuerdo con las necesidades y la capacidad de la planta.

Resultados

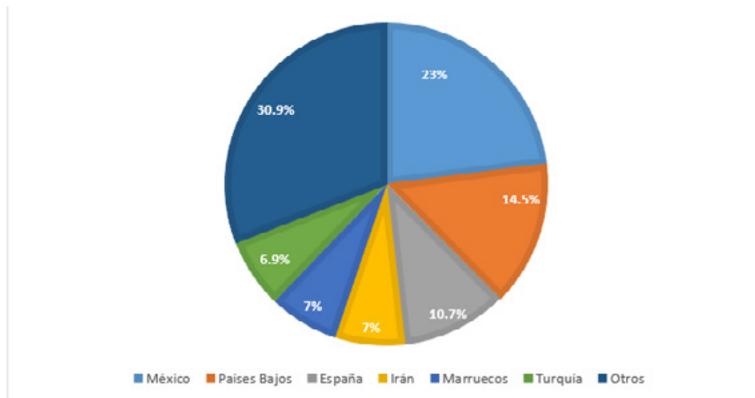
Producción mundial del jitomate. De acuerdo con la información obtenida de FIRA en el año 2019, en la producción internacional del jitomate está concentrada en diez países (Gráfica 10.1) de la siguiente manera: China, India, Turquía, Estados Unidos, Egipto, Irán, Italia, España, México y Brasil.



Fuente de elaboración: FAO, 2017; FIRA, 2019.

Gráfica 10.1 Países productores de jitomate

En el 2017 México ocupa la novena posición en países productores de jitomate, pero es el primer país exportador de jitomate a nivel mundial (Gráfica 10.2), seguido de Países Bajos, España, Irán, Marruecos y Turquía (FIRA, 2019).

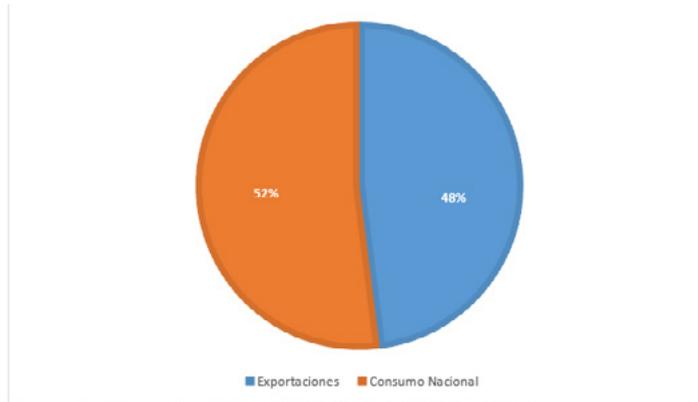


Fuente de información: UN Comtrade, 2017; FIRA, 2019.

Gráfica 10.2 Países exportadores de Jitomate

Producción nacional de jitomate. Durante el año 2016, la producción de jitomate fue de 3.35 millones de toneladas métricas (Tm) (100%), el consumo nacional fue de 1.74 Tm y en exportaciones fue de 1.61 Tm (Gráfica 10.3), según los

datos del SIAVI (Sistema de Información Arancelaria Vía Internet) y el SIAP de ese mismo año (SAGARPA, 2017). En dicho año, el jitomate mexicano cubrió 90.67% de las importaciones de Estados Unidos y 65.31% de Canadá (SAGARPA, 2017). Conforme con los datos de UN Comtrade en el 2017, México abasteció 84.9% del volumen de tomate fresco importado por Estados Unidos (FIRA, 2019).

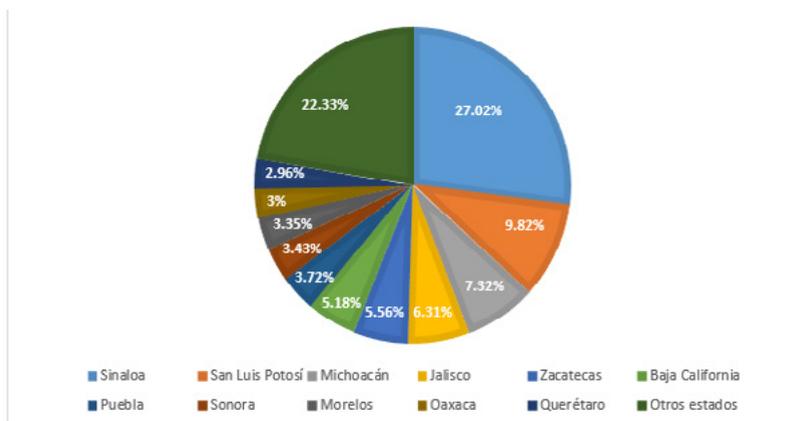


Fuente de información: SIAP y SIAVI, 2016; SAGARPA, 2017.

Gráfica 10.3 Producción y distribución de jitomate en México

Histórico producción nacional. De acuerdo con información del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) y la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), la producción de tomate rojo en México creció a una tasa promedio anual de 3.6 por ciento entre 2007 y 2017, para ubicarse en un máximo histórico de 3.47 millones de toneladas en total de las siembras del campo y agricultura protegida (SAGARPA, 2017; FIRA, 2019).

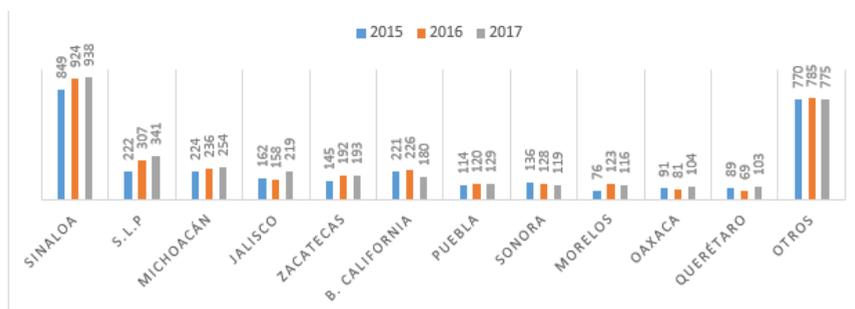
Producción por estados. La producción de tomate por estados en México está concentrada en once entidades, que produjeron 77.67% del total nacional en 2017, las cuales son: Sinaloa, San Luis Potosí, Michoacán, Jalisco, Zacatecas, Baja California, Puebla, Sonora, Morelos, Oaxaca y Querétaro (Gráfica 10.4) (SAGARPA, 2017; FIRA, 2019).



Fuente de información: SIAP y SADER, 2017; FIRA, 2019.

Gráfica 10.4 Producción de jitomate

Pero el mayor dinamismo de dicha producción entre las principales entidades productoras, se encuentran en Puebla, Querétaro, Oaxaca y San Luis Potosí, debido a que en la producción del periodo 2015-2017 hubo un incremento notable en estas regiones, como se observa en la Gráfica 10.5 (SIAP y SADER, 2017; FIRA, 2019).



Fuente de información: SIAP y SADER, 2017; FIRA, 2019.

Gráfica 10.5 Principales estados productores de jitomate en México (miles de toneladas)

Ubicación de la planta de bioplástico

Como se observa en el mapa de la Figura 10.4, la producción de jitomate está muy extendida en el país.



Figura 10.4 Estados de la República Mexicana que producen el jitomate
(Mapa elaborado a partir de la información de SAGARPA, 2017 y FIRA, 2019).

A pesar de que Sinaloa (Gráficas 10.4 y 10.5), es el estado que más produce, los productores con la finalidad de obtener producto de calidad de exportación están produciendo en los estados de Michoacán, Jalisco y Querétaro, con el propósito de tener acceso a la exportación durante el verano (FIRA, 2019). Esto implica que la zona más conveniente para ubicar la planta de bioplástico sería la zona central. Además, también se debe considerar la ubicación de las empresas que utilizan el jitomate para la generación de productos (puré, jugo, cátsup, entre otros). Este tipo de empresas como La Costeña, Clemente Jacques, Heinz, Jumex, entre otras, tienen sus plantas principales en Querétaro y en el Estado de México.

Lo anterior permite proponer la mejor ubicación, considerando el transporte de residuos en el Estado de México, ya que se podría recibir materia prima de los estados cercanos (Figura 10.5).



Figura 10.5 Estados de la República Mexicana donde impactaría la ubicación de la planta de bioplásticos situada en el Estado de México.

Extracción química-enzimática y balance de masa teórico

De acuerdo con los resultados obtenidos del punto anterior, los residuos de jitomate en México anuales son de 310,000 toneladas, que serían 25,833.33 toneladas mensuales.

El proceso total de extracción del material cuticular de jitomate y la reacción enzimática dura aproximadamente diez días, por lo que podrían hacerse 3 lotes al mes. Es decir, se dispondrían para procesar 8,493.15 toneladas de residuos por lote, sin embargo, la capacidad de la planta solo se propone para cubrir para alrededor del 10% del total, con la idea de poder instalar varias plantas pequeñas en puntos estratégicos. Para el escalamiento teórico de la planta, se utilizan los resultados experimentales de la tesis de Moya (2018), donde se recupera el 3.2% de cáscara de jitomate del total de residuos. Para este trabajo se propone una planta con un reactor de capacidad de 1000L, para tratar 3 toneladas de residuos de jitomate (Figura 10.6). Se prosigue a la obtención del hidrolizado del material cuticular, en el cual se realiza una hidrólisis básica con filtraciones y neutralizados, hasta que el material tenga un pH neutro.

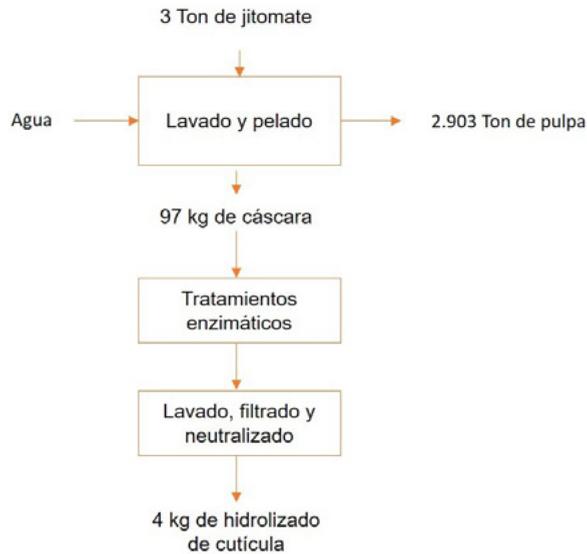


Figura 10.6 Extracción de material cuticular de la cáscara del jitomate basado en datos experimentales de Moya (2018).

Reacción enzimática teórica

Para la reacción enzimática, se utiliza el ácido láctico para la polimerización con los monómeros del hidrolizado de la cutícula buscando que el biopolímero generado sea más resistente (Figura 10.7). Esta reacción produce el bioplástico y por último se dirige al moldeado.

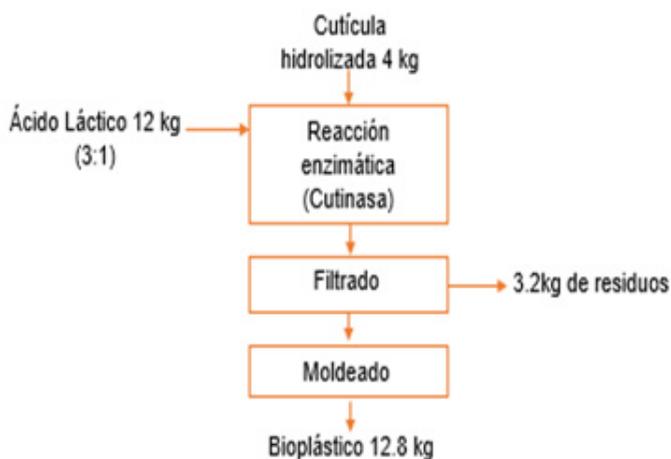


Figura 10.8 Diagrama de flujo de la reacción enzimática con cutícula de jitomate para la generación de bioplásticos.

Suponiendo que el rendimiento de la reacción enzimática es de 80%, los 4 kg de cutícula más los 12 kg de ácido láctico se obtendrán 12.8 kg de bioplástico. Si para cada bolsa se requieren 10 gramos aproximadamente de bioplástico, se podrían producir 1280 bolsas cada 10 días, es decir casi 4 mil bolsas al mes por planta de residuos, recordando que sólo se está procesando el 10% de residuos posible. Según datos de la Cámara de Diputados (2019), se utilizan en promedio 200 bolsas de plástico por persona al año. Si se aprovechara el 50% de residuos para hacer bioplásticos, se estarían produciendo aproximadamente 20 mil bolsas biodegradables al mes, que cubrirían una demanda para 1200 personas.

Reacción enzimática teórica. El programa que se utilizó para el “docking” fue AutoDock 4.2.6 que es un conjunto de herramientas de acoplamiento automatizadas, diseñado para predecir cómo moléculas pequeñas, como sustratos, se unen a un receptor de estructura 3D conocida (Morris, G.M., et al., 2009). También se utilizó Avogadro, un editor molecular que permite dibujar estructuras moleculares, con representaciones flexibles de alta calidad que permite la visualización en 3D en cualquier dirección de dichas estructuras (Hanwell, M. D., et al., 2012). Una vez obtenidas estas estructuras, tanto del ligando (lípidos creados con el ácido láctico y el ácido 10,16-dihidroxihexadecanoico) como de la macromolécula, la cual es la cutinasa de *Trichoderma reesei* con el código 4PSC de

su estructura en el Protein Data Bank (PDB), se realiza el “docking” utilizando el programa de AutoDock.

Los resultados de este “docking” fueron de 10 diferentes conformaciones donde el ligando puede estar estable con la macromolécula, al hacer un “docking” “ciego” (sin información de cuáles aminoácidos de la cutinasa son afectados) solo se pudo generar ocho diferentes conformaciones en el sitio activo, donde hay puentes de hidrógeno entre las estructuras, pero se tomó en cuenta la conformación donde la una unión más estable en comparación con las otras y los átomos se encuentran a una distancia adecuada de interacción (Figura 10.9).

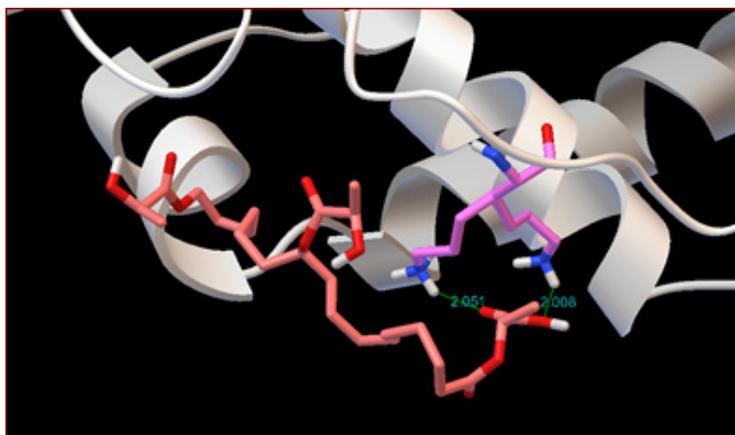


Figura 10.9 Distancia de los puentes de hidrógeno creados por la interacción del lípido y la cutinasa 4PSC.

De acuerdo con el ensayo de “docking” la catálisis de la reacción de síntesis enzimática de un biopolímero a partir de ácido láctico y la cutina realizada con la cutinasa de *T. reesei* podría llevarse a cabo.

Esquema del proceso. Para el diseño del esquema del proceso se utilizó Visual Paradigm Online Diagrams, un software en línea para la creación de diagrama de procesos industriales (Visual Paradigm Online Diagrams, 2020), como podemos observar en la Figura 10.10, se necesitarán un total de 14 pasos para la fabricación de las bolsas con el bioplástico. Algunos equipos se vuelven a utilizar, como los reactores enzimáticos.

FACTIBILIDAD Y DISEÑO DE UN PROCESO BIOCATALÍTICO PARA LA PRODUCCIÓN DE UN BIOPOLÍMERO A BASE DE RESIDUOS DE CUTÍCULA DE JITOMATE

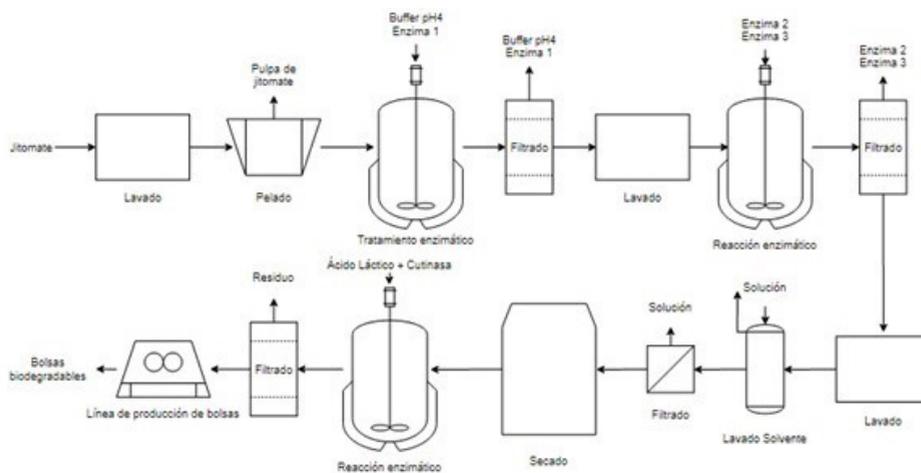


Figura 10.10 Diagrama de proceso industrial para la generación de bolsas de bioplásticos.

Conclusiones

El uso de residuos vegetales para la creación de materiales biodegradables es algo necesario, debido a el periodo que tardan los polímeros a base de petróleo en degradarse es de 150 a 2500 años en comparación con los meses que tardan en degradarse los biomateriales. Sería de gran utilidad poder emplear los residuos de jitomate e incluso los jitomates que se consideran como residuos al sufrir daño, ya sea por factores físicos o biológicos, los cuales se venden al mínimo. Se recomienda asociarse con una empresa productora de este fruto o que utilice el jitomate como materia prima con el fin de emplear sus residuos como la cáscara. Se recomienda hacer la síntesis del biopolímero con la cutina de *T. reesei* experimentalmente para comprobar los datos teóricos obtenidos en el "docking". Se recomienda evaluar los solventes orgánicos como el iso-octano y el éter dietílico, para determinar el solvente adecuado para la estabilidad de la cutinasa en la reacción de síntesis.

Agradecimientos

D. Reyes-Duarte agradece al proyecto "Desarrollo y consolidación del Cuerpo Académico Físicoquímica e Interacciones de Biomoléculas" por el apoyo para iniciar este proyecto y a la UAM-C y a la UNIDA del TecNM-ITV por el apoyo durante su estancia de investigación.

Referencias

1. Arrieta-Baez, D., Cruz-Carrillo, M., Gómez-Patiño, M. B., & Zepeda-Vallejo, L. G. (2011). Derivatives of 10, 16-dihydroxyhexadecanoic acid isolated from tomato (*Solanum lycopersicum*) as potential material for aliphatic polyesters. *Molecules*, 16(6), 4923-4936.
2. Coppola, G., Gaudio, M. T., Lopresto, C. G., Calabro, V., Curcio, S., & Chakraborty, S. (2021). Bioplastic from Renewable Biomass: A Facile Solution for a Greener Environment. *Earth Systems and Environment*. doi:10.1007/s41748-021-00208-7
3. Chamas, A., Moon, H., Zheng, J., Qiu, Y., Tabassum, T., Jang, J. H., ... & Suh, S. (2020). Degradation rates of plastics in the environment. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(9), 3494-3511.
4. Chávez-Flores, L. F., Beltran, H. I., Arrieta-Baez, D., & Reyes-Duarte, D. (2017). Regioselective synthesis of lactulose esters by *Candida antarctica* and *Thermomyces lanuginosus* lipases. *Catalysts*, 7(9), 263.
5. Earth-Policy-Institute. (October 16, 2014). Plastic Bags Fact Sheet. Retrieved from http://www.earth-policy.org/mobile/releases/plastic_bags_fact_sheet
6. Fabra, M. J., López-Rubio, A., & Lagaron, J. M. (2014). 15 - Biopolymers for food packaging applications. In M. R. Aguilar & J. San Román (Eds.), *Smart Polymers and their Applications* (pp. 476-509): Woodhead Publishing.
7. Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA) (2019). Consultado en línea el 19 de abril del 2021. Liga de acceso: <https://www.gob.mx/fira>
8. Fundacion-Aquae. (2020). Tiempo de degradación de los residuos inorgánicos. Retrieved from <https://www.fundacionaquae.org/cuanto-tiempo-tardan-degradarse-desechos/>
9. Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science advances*, 3(7), e1700782.
10. Giacobelli, C. (2018). Single-Use Plastics: A Roadmap for Sustainability (rev. 2). UNEP. Retrieved from https://www.unep.org/es/resources/informe/plasticos-de-un-solo-uso-una-hoja-de-ruta-para-la-sostenibilidad?_ga=2.244510275.774750982.1618817432-1265962633.1618817432
11. Gómez-Patiño M. Beatriz , L. S. R., Espinosa Domínguez Sergio, Hernández Guerrero Maribel , Arrieta-Baez Daniel, Beltrán Conde Hiram , Campos Terán José, Reyes Duarte Dolores. (2012). *Obtención enzimática de compuestos bioactivos a partir de recursos naturales iberoamericanos*. In G. C. Sandoval Fabián (Ed.), *Obtención enzimática de compuestos bioactivos a partir de*

- recursos naturales iberoamericanos. Madrid: CSIC, Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- Gómez-Patiño, M. B., Cassani, J., Jaramillo-Flores, M. E., Zepeda-Vallejo, L. G., Sandoval, G., Jimenez-Estrada, M., & Arrieta-Baez, D. (2013). Oligomerization of 10, 16-dihydroxyhexadecanoic acid and methyl 10, 16-dihydroxyhexadecanoate catalyzed by lipases. *Molecules*, 18(8), 9317-9333.
 - Guala G, Döring M (2020). Integrated Taxonomic Information System (ITIS). National Museum of Natural History, Smithsonian Institution. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/rjarmt> accessed via GBIF.org on 2021-04-22.
 - Hanwell, Marcus D; Curtis, Donald E; Lonie, David C; Vandermeersch, Tim; Zurek, Eva; Hutchison, Geoffrey R (2012). "Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform". *J. Cheminform.* 4 (1): 17. PMC 3542060. PMID 22889332.
 - Heredia, A. (2003). Biophysical and biochemical characteristics of cutin, a plant barrier biopolymer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1620(1-3), 1-7.
 - Hernández, S. M. L. y Guzmán, M. B. (2009). Biopolímeros empleados en la fabricación de envases para alimentos. *Revista Publicaciones e Investigación*, 3(1), pp. 103-129.
 - Herryman M. & Blanco G. (2005), Ácido Láctico y Poliláctico: Situación Actual y Tendencias, ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, 39(1), 49 – 51.
 - Islam, M. (2012). Synthesis of polylactic acid for biomedical, food packaging and structural applications: A review. *Polylactic Acid: Synth Prop Appl*. Hauppauge, NY: Nova Science Publishers Inc, 219-233.
 - Lebreton, L., & Andrady, A. (2019). Future scenarios of global plastic waste generation and disposal. *Palgrave Communications*, 5(1), 1-11.
 - Liu, Z., Liu, Y., Zeng, G., Shao, B., Chen, M., Li, Z., ... & Zhong, H. (2018). Application of molecular docking for the degradation of organic pollutants in the environmental remediation: A review. *Chemosphere*, 203, 139-150.
 - Martí, L., Ferrero, P., & Andrés, E. V. (2020). Biodegradación y síntesis de plásticos mediante el uso de enzimas y micro-organismos seleccionados. *Plásticos Universales*, (238), 50-53.
 - Mederake, Linda; Gürtler, Stephan; Knoblauch, Doris (2019): Regulation: Solutions at the Wrong End. In: Heinrich-Böll-Stiftung und BUND – Bund für Umwelt und Naturschutz Deutschland (Eds.): *Plastic Atlas 2019. Facts and figures about the world of synthetic polymers*. Berlin.
 - Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell,

- D. S. and Olson, A. J. (2009) Autodock4 and AutoDockTools4: automated docking with selective receptor flexibility. *J. Computational Chemistry* 2009, 16: 2785-91.
24. Moya, C. M. (2018). Prueba de concepto de una mezcla de compuestos extraídos de la cutícula de jitomate y Tereftalato de Polietileno (PET) para la formación de películas poliméricas. Licenciatura en Ingeniería Biológica. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Cuajimalpa.
 25. Muñoz García, R., & Ramírez Bobadilla, M. (2018). Degradación y biodegradación de plásticos. *Resumen ejecutivo*. Retrieved from DOI: 10.13140/RG.2.2.21504.48642
 26. Pinzi, L., & Rastelli, G. (2019). Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery. *International journal of molecular sciences*, 20(18), 4331.
 27. Rahman, M. H., & Bhoi, P. R. (2021). An overview of non-biodegradable bioplastics. *Journal of Cleaner Production*, 126218.
 28. Rodríguez, S. L. J. y Orrego, A. C. E. (2016). Aplicaciones de mezclas de biopolímeros y polímeros sintéticos: revisión bibliográfica. *Revista Científica*, 2(25), pp. 252-264.
 29. Roussel, A., Amara, S., Nyyssölä, A., Mateos-Díaz, E., Blangy, S., Kontkanen, H., ... & Cambillau, C. (2014). A cutinase from *Trichoderma reesei* with a lid-covered active site and kinetic properties of true lipases. *Journal of molecular biology*, 426(22), 3757-3772.
 30. SAGARPA (2017). Planeación agrícola nacional 2017-2030. Jitomate Mexicano. 1ra ed. Consultado en línea el 20 de abril de 2021. Liga: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257077/Potencial-Jitomate.pdf>
 31. Sepúlveda, Lady Joana Rodríguez, and Carlos Eduardo Orrego Alzate. (2016). "Aplicaciones de mezclas de biopolímeros y polímeros sintéticos: revisión bibliográfica/Applications of biopolymers and synthetic polymers blends: literature review/Aplicacoes de misturas de biopolímeros e polímeros sintéticos: revisão da literatura." *Revista Científica*, no. 25, 2016, p. 252
 32. Valero-Valdivieso, M. F., Ortegón, Y., & Uscategui, Y. (2013). Biopolímeros: avances y perspectivas. *Dyna*, 80(181), 171-180.
 33. Vázquez-Alcántara L. (2018). Clonación y expresión de cutinasas fúngicas. Tesis de Maestría en Ciencias en Ingeniería Bioquímica. Instituto Tecnológico de Veracruz, Veracruz, México.
 34. Villalobos, C. R. (2015). Innovaciones y tendencias en la aplicación de biopolímeros en la industria de alimentos. Seminario internacional UBB. Retrieved from <https://cutt.ly/DvHiAXO>

El Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), es un Centro Público de Investigación del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) que impulsa la generación de conocimiento y la aplicación de ciencia y tecnología, comprometido a apoyar los sectores sociales y económicos de los sistemas productivos del país. En el marco del II Congreso de Investigadoras del SNI: Ingeniería para un futuro sustentable, se publican Mujeres en la ciencia para el fortalecimiento del desarrollo sustentable, cuyo objetivo es contribuir a difundir y divulgar la ciencia y el desarrollo tecnológico en el área de las ingenierías.

Este libro abre una perspectiva de comunicación de la ciencia en temas como: procesos enzimáticos para aprovechamiento de residuos lignocelulósicos, producción de biopolímeros, además de temas como bioinformática en salud, como lípidos y su efecto sobre el síndrome metabólico.

La compilación de estos trabajos permite que investigadoras pertenecientes al Sistema Nacional de Investigadores(as) (SNI), difundan sus investigaciones y trabajos dirigidos a personal científico, tecnológico y académico de IES y CPIs del país.



COECYTJAL
Consejo Estatal de Ciencia
y Tecnología de Jalisco