

Revista de la Sociedad Mexicana de
Biotechnología
y Bioingeniería A.C.

Año 2024 Volumen 28, Número 2
ISSN 0188-4786



Sociedad Mexicana de
Biotechnología y Bioingeniería



MESA DIRECTIVA

2022 – 2024

Dra. Romina Rodríguez Sanoja
Presidenta

Dr. Luis Bernardo Flores Cotera
Vicepresidente

Dra. Beatriz Ruiz Villafán
Secretaria

Dra. María Dolores Reyes Duarte
Tesorero

Dr. Manuel Alejandro Lizardi Jiménez
Subsecretario

M. en C. Karina Adames Beas
Vocal Profesional

Biol. Teresa Elizabeth Mtz Oropeza
Vocal Estudiante

EDITORA

Dra. María Soledad Córdova Aguilar
UNAM

Co-editor

Dr. Jorge Gracida
UAQ

COMITÉ EDITORIAL

Dra. Aurora Antonio Pérez
Dra. Itzel López Rosas
Dra. Isadora Martínez Arellano
Dra. Andrea Sabido Ramos
Dra. Georgina Sandoval
Dra. Elda Patricia Segura Cenicerros
Dra. María Eugenia de la Torre
Dra. Virginia Villacruz
Dra. Beatriz Ruiz Villafán

Formación y edición

Pas. QA Mariana Espinoza Tapia

ISSN 0188-4786, revista cuatrimestral publicada por la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería, A.C. incluida en PERIÓDICA, índice de Revista Latinoamericanas en Ciencias (CICH-UNAM), en LATINDEX (Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal), los artículos se encuentran en Google Académico. Certificado de Licitud de Título en trámite y Certificado de Licitud de Contenido en trámite. Reserva de derechos de Título 04-1999-082516265000-101. Los conceptos que en ella aparecen son responsabilidad exclusiva de los autores. Se prohíbe la reproducción total o parcial de su contenido sin previa autorización por escrito del Comité editorial. Toda correspondencia deberá enviarse a Km. 23.5 Carretera Federal México-Cuernavaca, Av. Cipreses s/n, Col. San Andrés Totoltepec, C.P. 14400, Alcaldía Tlalpan, Ciudad de México. o a la siguiente dirección electrónica revista_biotecnologia@smbb.mx.

Índice

Instrucciones para los autores 4

Artículos

Remoción de colorante negro 22 usando *Saccharomyces cerevisiae* inmovilizada en perlas de alginato

Daniela Andaluz, Lorena Cuevas, María Fernanda Rotter, Daniel Toledo,
Laura Castillo 8

Aprovechamiento biotecnológico de la Quitina de los desechos de crustáceos

Vanessa Verduzco, Ariadna Ávila, Francisco Jiménez, Alejandro Díaz Izabal 18

Solventes eutécticos profundos naturales: Aplicaciones en biotecnología y otros sectores industriales

Juan Pablo Carreón-Hidalgo, María de Lourdes Ruiz-Peralta, Edith Corona-Jiménez 31

Análisis cinético de la producción de biohidrógeno usando vermicompost como inóculo y diferentes concentraciones de sustrato

María J. Pascualone 43

Reacción al fuego de tres maderas tropicales impregnadas con azoles

Javier Ramón Sotomayor Castellanos y Luz Elena Alfonsina Ávila Calderón 52

Instrucciones para los autores

Guía de Autores

La revista puede recibir trabajos de investigación original, así como de revisión en los campos de la Biotecnología y Bioingeniería. Todos los manuscritos serán sujetos a revisión por al menos dos miembros del Comité Editorial y deberán contar con una recomendación de aceptación para ser publicados.

Los idiomas en los que se puede publicar en la revista son el español y el inglés.

Los trabajos se escribirán en hoja tamaño carta (21.6 cm x 27.6 cm). Los márgenes aplicados a todo el manuscrito serán de 2.5 cm para los extremos superior e inferior, así como 3 cm de cada lado. Las páginas deberán estar numeradas en la parte inferior y central de cada hoja.

Para evitar errores innecesarios se recomienda usar el corrector de gramática y ortografía del procesador de palabras. Se recomienda que los trabajos completos tengan un máximo de 25 páginas, escritas con un interlineado de 1.5 renglones, incluyendo las tablas y figuras. Las publicaciones en la revista Biotecnología están exentas de costo para los autores.

Cuando corresponda, se recomienda el uso de abreviaturas para referirse a unidades de tiempo (h, min, s), de volumen (l, ml, μ l), de peso (kg, g, mg, μ g), ADN, ARN y otras comúnmente aceptadas en la literatura científica.

Los trabajos de investigación original pueden tocar cualquiera de los diversos campos que cultivan la biotecnología y la bioingeniería, desde aspectos fundamentales hasta sus aplicaciones, incluyendo: Enzimas y Biocatálisis, Microbiología, Biotecnología Agrícola y Vegetal, Biotecnología Marina, Alimentos y bebidas, Biotecnología farmacéutica, Biotecnología Ambiental, Bioingeniería y fermentaciones, Bioenergía y biocombustibles, Biología de sistemas y bioinformática, Biología sintética, Nanobiotecnología y biomateriales, Ingeniería metabólica, Omicas, Bioseguridad y Bioética.

Tanto los trabajos de investigación original como las revisiones deberán apegarse al siguiente formato:

1. El título del manuscrito se escribirá en negritas con letra Arial o equivalente tamaño 14. El título deberá estar centrado y ser conciso e informativo. Evite el uso de abreviaciones y fórmulas.

Instrucciones para los autores

2. El nombre de los autores ocupará los siguientes renglones escribiendo el nombre y primer apellido de cada participante. Se usará letra Arial o equivalente tamaño 12. Los nombres de los participantes deberán estar centrados, señalando con un asterisco el autor responsable de la publicación. En el siguiente renglón con letra itálica Arial del mismo tamaño, se incluirá la dirección postal de la institución de adscripción de los autores, así como la dirección de correo del autor corresponsal. Si el responsable fuera un estudiante, deberá incluir una carta del tutor o director del trabajo autorizándolo.
3. Se deberá añadir un Resumen de no más de 250 palabras en español y el correspondiente Abstract en inglés.
4. Se incluirán entre 3 a 6 Palabras clave: que permitan clasificar el artículo en una base de datos. Estas palabras deberán de incluirse en español y en inglés (Key words).
5. Si el texto inicia con el nombre de algún subtema, éste de pondrá como primera línea en cursivas con letra Arial o equivalente tamaño 10. Después en el siguiente renglón se iniciará el texto descriptivo usando letra Arial o equivalente tamaño 10. El texto deberá ser escrito con un interlineado de 1.5 renglones. Se deberá dejar un espacio de un renglón al inicio de una sección o subtema nuevo. Los géneros y especies deberán escribirse en letras itálicas.
6. Las figuras deberán numerarse con arábigos, correlativamente en orden de aparición en el texto. No se integrarán al texto, sino al final del manuscrito. No obstante, para facilitar el trabajo de edición, se recomienda indicar la ubicación de las mismas en el momento en que son mencionadas por primera vez en el texto. Las figuras deben incluir un breve título explicativo en la parte inferior de la misma. Si es necesario incluir fotos, éstas se deberán designar como figuras.
7. Las tablas también se numerarán con arábigos ubicados en la parte superior de las mismas e incluirán un breve título explicativo. Las notas en las tablas deberán ser indicadas con letras minúsculas en superíndice. La ubicación de las tablas será señalada en el texto, pero se anexarán en hojas separadas y al igual que las figuras, al final del manuscrito.
8. La información dada como referencias bibliográficas deberá permitir a los lectores llegar con facilidad a la fuente de información original. En el texto del trabajo, las referencias se citan por autor y año entre paréntesis redondos. Por ejemplo: “Martínez & García (1999) han demostrado que...”, o bien, “Datos recientes (Martínez & García, 1999) han demostrado que...”. Si la cita posee varios autores se escribirá como sigue: “Gutiérrez et al. (2003), han demostrado...” O bien: “Datos recientes (Gutiérrez et al., 2003) han mostrado...”

Instrucciones para los autores

Si la cita es una página de Internet, la dirección URL deberá escribirse completa y entre paréntesis directamente en el texto.

9. La lista de Referencias se deberá escribir con el mismo tipo de letra del texto principal (Arial tamaño 10) y con sangría francesa de acuerdo con el siguiente formato:

Artículos:

Bayegan AH, Clote P (2020) RNAmountAlign: Efficient software for local, global, semiglobal pairwise and multiple RNA sequence/structure alignment. PLoS ONE 15(1): e0227177. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227177>.

Libros:

Ullrich M (2009) Bacterial Polysaccharides: Current Innovations and Future Trends. Horizon Scientific Press, Norwich.

Capítulos de libros:

Sánchez S & Demain AL (2009) Metabolic regulation and overproduction of primary metabolites. In: Encyclopedia of Industrial Biotechnology. Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology (EIB). Flickinger MC (ed). John Wiley & Sons, Inc. Hoboken, NJ. pp. 396-458.

Patentes:

Fenical WH, Jensen PR & Kwon HC (2009) Polyol macrolide antitumor-antibiotics from the marine actinomycete strain CNQ140. US patent 7,521,414.

Congresos y reuniones:

Reyes N, Domínguez RM, Islas I & Solís S (2007) Inducción diferencial por pH y temperatura del complejo pectinolítico producido por células inmovilizadas de *Aspergillus HL*. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Morelia Mich. México. OIII-12.

Instrucciones para los autores

Sitios en internet:

CAZY, Carbohydrate-Active Enzymes Database. (<http://www.cazy.org/>)

Tesis de pre y posgrado:

Cárdenas C (2009) Evaluación del uso biotecnológico de la semilla de *Ditaxis heterantha* para la producción de safranal. Tesis Maestría en Ciencias Bioquímicas. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. pp. 1-78.

Cada autor es responsable de la precisión de las citas que emplea.

Una vez que ha sido revisado y aceptado su trabajo, los autores deberán enviar una carta de cesión de los Derechos de Autor, de manera que la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería pueda hacer uso del artículo aceptado, o parte de él, con fines de divulgación y difusión de la actividad científica y tecnológica. En ningún caso, dichos derechos afectan la propiedad intelectual que es propia de los autores, para usar la totalidad o parte de ese artículo con fines no lucrativos.

Los trabajos se someten en línea en la página electrónica de la Sociedad Mexicana de Biotecnología, en la dirección <https://smbb.mx/publicaciones/publicacion-de-articulo/>. Al momento de recibirlo, se enviará un acuse de recibo al autor correspondiente. La dirección para mantener comunicación con el editor es: revista_biotecnologia@smbb.mx y marisol.cordova@icat.unam.mx.

Una vez aceptados, los trabajos son editados y enviados a los autores para su corrección. En esta condición no se permitirán cambios sustanciales en el contenido de los mismos sin la aprobación del editor en jefe. Una vez aprobada la prueba, el trabajo se publicará en línea y podrá ser consultado en la página de la Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería AC <http://www.smbb.com.mx/>.

Remoción de colorante negro 22 usando *Saccharomyces cerevisiae* inmovilizada en perlas de alginato

Daniela Andaluz¹, Lorena Cuevas¹, María Fernanda Rotter¹, Daniel Toledo², Laura Castillo^{2*}

¹ Licenciatura en Biotecnología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Anáhuac México campus Norte

² Centro de investigación en Ciencias de la Salud. Facultad de Ciencias de la Salud Universidad Anáhuac México campus Norte

* Estos autores contribuyeron de igual forma a esta investigación

*e-mail: laura.castillo@anahuac.mx

Resumen

La industria textil es considerada uno de los principales consumidores de agua durante sus procesos de producción, utiliza aproximadamente el 70% de colorantes azoicos a nivel mundial y aunque la amenaza principal empieza con el abuso de recursos naturales durante el desarrollo textil, se ha identificado como un mayor peligro ambiental, la pérdida de estos efluentes que son liberados al medio ambiente. Los colorantes al ser diseñados para ser estables a la luz, agentes químicos y condiciones de lavado, si no son adecuadamente tratados pueden permanecer en el medio ambiente por largos períodos de tiempo, con el consiguiente riesgo de bioacumularse y biomagnificarse en la cadena trófica. (Najares, 2014). Es por ello, que, mediante procesos de biorremediación, se logran desarrollar propuestas que sean simples, económicas y con un impacto ambiental mínimo. En este estudio, se utilizó colorante Negro, con el fin de evaluar la eficiencia de remoción de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* inmovilizada en perlas de alginato. Durante esta investigación se ha comprobado que la ósmosis del colorante a través de las perlas de alginato es dependiente de la concentración del colorante, ya que esta se llega a saturar, por lo que, se identifica que la biorremediación también es dependiente de este factor y que la *Saccharomyces cerevisiae* inmovilizada de esta manera sirve como una gran herramienta para remover colorantes de tipo azoico. (Flórez et.al, 2018)

Palabras Claves: Negro 22, colorante azoico, biorremediación, inmovilización, remoción, *Saccharomyces cerevisiae*.

Abstract

The textile industry is considered one of the main consumers of water during its production processes, it uses approximately 70% of azo dyes worldwide and although the main threat begins with the abuse of natural resources during textile development, it has been identified as a greater environmental danger, the loss of these effluents that are released into the environment. Dyes, being designed to be stable to light, chemical agents and washing conditions, if not properly treated, can remain in the environment for long periods of time, with the consequent risk of bioaccumulating and biomagnifying in the food chain. (Najares, 2014). That is why, through bioremediation processes, it is possible to develop proposals that are simple, economical and with minimal environmental impact. In this study, Black dye was used in order to evaluate the removal efficiency from the yeast *Saccharomyces cerevisiae* immobilized in alginate beads. During this research it has been proven that the osmosis of the dye through the alginate beads is dependent on the concentration of the dye, since it becomes saturated, therefore, it is identified that the bioremediation is also dependent on this factor and that *Saccharomyces cerevisiae* immobilized in this way serves as a great tool to remove azo-type dyes. (Flórez et.al, 2018)

Key Words: Black 22, azo dye, bioremediation, immobilization, removal, *Saccharomyces cerevisiae*.

Introducción

El rápido crecimiento de las industrias ha conducido el aumento de la demanda de productos textiles, que está directamente relacionado al aumento de contaminación de agua debido a los efluentes liberados durante la confección de estos tejidos. Esta amenaza de seguridad ambiental requiere de procesos de biorremediación que brinden alternativas eficientes para tratar los residuos para así recuperar los cuerpos de agua alterados y regresarlos a su condición natural, mediante el uso de microorganismos (Banu et al., 2020).

Se conoce que entre un 2% y un 50% de colorante que no se une a las fibras durante el procesamiento textil se descarga en el medio ambiente y estos productos causan efectos tóxicos en algas, peces y crustáceos. De modo que su nivel de toxicidad aguda reduce la reproducción, la velocidad de alimentación por filtración y altera la actividad fotosintética de los sistemas acuáticos al reducir la penetración de la luz y la disponibilidad de oxígeno que es esencial para las formas de vida acuática (Najares, 2014). Es decir que la contaminación de estos colorantes no solo afecta la transparencia del agua sino la concentración de oxígeno disuelto en cuerpos de agua, lo que indica que incluso bajas concentraciones de estos efluentes tienen la capacidad de alterar notablemente la estética de los cuerpos de agua (Najares, 2014).

Los colorantes azoicos presentan uno o más grupos azo ($R_1-N = N-R_2$) y anillos aromáticos, principalmente sustituidos por grupos sulfonato. Estos colorantes son altamente utilizados en la industria textil, son compuestos xenobióticos que se caracterizan por ser resistentes, estables ante la luz y tóxicos. Esto indica una gran capacidad para tolerar un ataque fisicoquímico, por lo que se considera que, al no ser fácilmente degradados mediante métodos convencionales, un proceso biológico, puede resultar más atractivo. Sin embargo, estos procesos dependen de la adaptabilidad y la actividad enzimática de los microorganismos seleccionados y de la estructura química del colorante. Por ello es importante seleccionar el microorganismo adecuado, para tener un tratamiento exitoso (Ruscasso, 2022; Tovar et al., 2016).

Se ha reportado mediante diversos estudios, que microorganismos pertenecientes a

diferentes grupos taxonómicos de bacterias, algas, hongos y levaduras tienen la capacidad para romper los enlaces azo de los colorantes azoicos y con ello contribuir a su remoción de los mantos acuíferos (Cortazar, 2012). Sin embargo, en comparación con especies fúngicas y bacterianas, las levaduras han mostrado una mayor facilidad y fuerza para llevar a cabo este proceso de reducción y remoción. (Bulacio, 2018). La levadura *Saccharomyces cerevisiae* se ha reportado como un tipo de levadura que gracias a las enzimas que expresa, entre ellas las azo reductasas, la hace capaz de remover este tipo de colorantes. Es decir, estas enzimas catalizan compuestos en presencia de varias coenzimas reductoras como $FADH_2$, $NADH$ y $NADPH$, mostrando potencial y una gran versatilidad de usos como agentes para remover colorantes (Flórez et al., 2018). Aunado a esto, se ha reportado como agente biotecnológico, debido que es un microorganismo que cuentan con una alta tolerancia a condiciones extremas, como lo puede ser la presencia de metales pesados, concentraciones altas o bajas de sales, pH ácido, altos niveles de compuestos xenobióticos y/o la presencia de colorantes azoicos. (Bolívar, 2023; Al-Tohamy et al., 2020; Giovanella et al., 2019)

El término inmovilización se refiere al confinamiento de células o enzimas en una región definida, reteniendo sus propiedades y actividades catalíticas. El alginato de calcio provoca la unión de las levaduras actuando como soporte durante la reacción, para que la actividad catalítica de las levaduras no sufra ningún tipo de alteración, ya que brinda protección a los microorganismos contra agentes tóxicos, estrés ambiental y condiciones adversas presentes en aguas residuales. Esto permite que las células puedan ser fácilmente separadas de los productos y de esta manera ser recuperadas y reutilizadas. (Hernandez et al., 2011; Flórez et al., 2018). Adicionalmente, el alginato de calcio actúa como un espesante biodegradable y una alternativa de confinamiento de bajo costo (Flórez et al., 2018).

Por todo lo mencionado anteriormente, y con la finalidad de lograr un efectivo método de remoción de colorantes de aguas contaminadas utilizando una técnica que no

se preocupe por la eliminación de biomasa después de ser manipulada (Vatandoostarani, 2017), se propone evaluar la eficiencia de

Materiales y Métodos

Colorantes y Medios

Durante el experimento se utilizó colorante negro 22 grado comercial. Los reactivos para la preparación de medio y otras soluciones fueron de grado analítico. Los medios empleados fueron caldo YPD (Roth, 2021), agar YPD (Roth, 2021), agar PDA (Oxoid, 2021); el medio mínimo mineral fue modificado del medio propuesto por Florez et al. (2018), el cual contiene: 1 g/L de sacarosa, 1 g/L de NH_4Cl , 0.5g/L de NaH_2PO_4 , 0.4 g/L de NaCl , 0.35 g/L de MgCl_2 , y 0.05 g/L de CaCl_2 .

Resiembra del microorganismo

Se realizó la resiembra de la cepa *S. cerevisiae* ATCC 9763 en medio YPD, para asegurar la pureza del microorganismo de interés. Se incubó por 48 horas a 28 °C y posteriormente se realizó una tinción del crecimiento, para confirmar la ausencia de bacterias Gram positivas o Gram negativas en la muestra.

Prueba de tolerancia de *S. cerevisiae* al colorante Negro 22

Se sembró *S. cerevisiae* de forma masiva sobre agar YPD adicionado con distintas concentraciones de colorante Negro 22 (250 ppm, 350 ppm y 500 ppm) por duplicado. Se incubó por 48 horas a 28 °C para observar la presencia o ausencia de crecimiento en las cajas y así observar la resistencia del microorganismo a diferentes concentraciones del colorante.

Observación de fotosensibilidad de colorante

La prueba se realizó con el colorante a concentraciones de 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm y 250 ppm. Las soluciones se colocaron con tubos de ensaye y fueron expuestas a la luz del día, durante 8 días y se

remoción del colorante azoico Negro 22 utilizando *Saccharomyces cerevisiae* inmovilizada en matriz de alginato de calcio. tomó evidencia fotográfica inicial y final para hacer una comparación visual de la coloración del agua con colorante, observando si disminuía o no la intensidad de color, con la finalidad de prevenir la remoción por fotosensibilidad, y asegurar que la remoción era por el sistema propuesto.

Cultivo de Biomasa

De una caja Petri con crecimiento del microorganismo, se realizó una tinción para asegurar que se tuviera el cultivo puro inicial. El cultivo se inoculó en 10 ml de medio YPD, para colocarse posteriormente en matraz con 150 ml de caldo YPD (por triplicado), durante 48 horas a 28°C y 125 rpm. Se realizó una tinción posterior al crecimiento en medio líquido, para asegurar que el cultivo fuera axénico y revisar el crecimiento de la biomasa. Se centrifugó el contenido de los matraces a 5,100 rpm durante 10 minutos, se retiró el sobrenadante, se realizó un lavado con solución salina al 0.85 % (p/v), y se resuspendió el pellet con vortex. Se repitió este proceso hasta concentrar toda la biomasa de los matraces. La biomasa obtenida fue usada para la inmovilización en matriz de alginato.

Inmovilización de *S. cerevisiae*

A continuación, la biomasa de *S. cerevisiae* se resuspendió en 30 ml de solución salina 0.85 % (p/v) y se mezcló con 0.6 g de alginato de sodio, para obtener una concentración de 2 % (p/v), la biomasa y el alginato se mezclaron hasta obtener una consistencia homogénea y viscosa. Con ayuda de una jeringa se tomó la mezcla y se descargó por goteo sobre 300 ml de cloruro de calcio 1.5 % (p/v) a 4 °C, el cual se mantuvo en agitación suave y continua, para favorecer la formación de las perlas (Calderón, 2017), las cuáles se separaron por filtración con ayuda de una gasa estéril y se almacenaron en medio con colorante a 150 ppm por 48 horas, a 125 rpm y 28 °C (Figura 1).

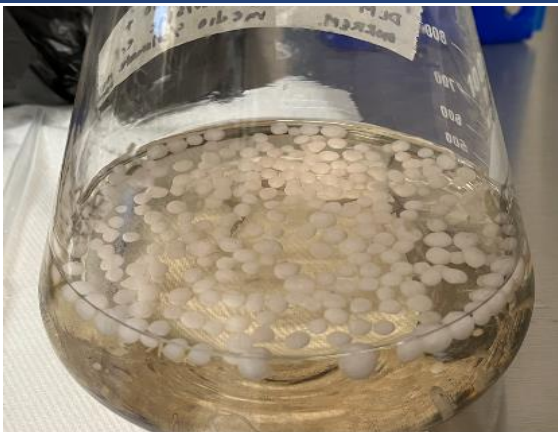


Figura 1. Pellets de biomasa de *S. cerevisiae* inmovilizada en alginato de calcio, las cuales se encuentran suspendidas en medio mínimo mineral con colorante a 150 ppm incubadas por 48 horas en agitación a 125 rpm a 28 °C.

Remoción del colorante

Se utilizó el medio mínimo mineral propuesto por Flórez et al. (2018). Se preparó el medio adicionado con 250 ppm de colorante Negro 22, siendo las proporciones del medio 1 g/L de sacarosa, 1 g/L de NH₄Cl, 0.5g/L de NaH₂PO₄, 0.4 g/L de NaCl, 0.35 g/L de MgCl₂, y 0.05 g/L de CaCl₂. Se añadieron 100 ml de medio con colorante a cada matraz experimental y se agregaron 7 g de perlas de alginato con

biomasa de *S. cerevisiae* inmovilizada, el experimento se realizó por triplicado.

Para el experimento se prepararon los controles, los cuales contenían solamente 100 ml de medio con colorante. Una vez preparados los matraces, se metieron a incubar cubiertos en aluminio, debido a la fotosensibilidad del colorante (Hernández et al., 2021). Los matraces se incubaron a 28 °C y 125 rpm, todos los tratamientos se incubaron bajo las mismas condiciones, tanto los dos controles como el triplicado de matraces de medio con colorante y perlas con biomasa de *S. cerevisiae* inmovilizada. Se tomaron muestras de cada matraz cada 24 h durante 8 días y después se leyeron en el espectrofotómetro a 490 nm para calcular la concentración del colorante posterior al proceso de remoción, este cálculo se realizó con ayuda de la curva patrón del colorante. También se realizaron barridos de 200 nm a 600 nm en el espectrofotómetro de las muestras iniciales y las finales, para comparar los picos de absorbancia presentes en la muestra, y así observar, si fuera el caso, la aparición de intermediarios de la remoción.

La remoción se calculó con la fórmula propuesta por López et al. (2020).

$$\% \text{ Remoción} = \left[\frac{\text{concentración afluyente} - \text{concentración efluente}}{\text{concentración afluyente}} \right] * 100$$

Al concluir el muestreo se hizo una tinción de Gram para asegurar que no hubiera contaminación en los matraces de los experimentos.

Resultados y Discusión

Las levaduras como *S. cerevisiae*, al ser consideradas “GRAS”, es decir, es un microorganismo que se conoce como apto para el consumo humano, se elimina la preocupación de manejar medidas de remoción de los microorganismos que podrían ser patógenos oportunistas en un sistema propuesto para el tratamiento de residuales textiles (Matúš et al., 2023; Moreno et al., 2018).

En la Tabla 1, se reflejan los estudios reportados en la literatura sobre el uso de distintas levaduras como estrategia de remoción de colorantes azoicos, donde se obtuvieron mayores porcentajes de remoción con el uso de otras levaduras distintas a *S. cerevisiae*. (Bulacio, 2018; Matúš et al., 2023; Tsang et al., 2018).

Artículos

Tabla 1. Remoción de colorantes azoicos usando distintas levaduras inmovilizadas en diferentes tipos de matrices.

Levadura	Colorante Azoico	Inmovilización	% Remoción	Referencia
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Azul de metileno	Alginato de Calcio	76 - 82 %	(Puentes, 2010)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Negro P-SG	Gelatina	77%	(Fuentes, et al., 2018)
<i>Saccharomyces sp</i>	Rojo metílico y azul tripan	Alginato de Sodio	70 - 80 % y 65 - 75 %	(Dastagir, et al., 2014)
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Azul de metileno	Perlas de alginato de sodio	Máxima adsorción 66.67 mg/g	(Mupa, et al., 2018)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Naranja de Metilo	Nanoparticulas F ₃ O ₄	96.52%	(Azeez, et al., 2022)

La resiembra de la cepa original de la levadura *S. cerevisiae* ATCC 9763 en medio YPD nos asegura que el cultivo del microorganismo es axénico.

Por lo tanto, al realizar las tinciones (Figura 2) se puede visualizar claramente que la levadura empleada no presenta contaminación bacteriana ni fúngica.



Figura 2. Tinción de Gram de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. No se presenta contaminación fúngica o bacteriana, lo que nos indica que se trata de una cepa pura.

Artículos

Las pruebas de tolerancia del colorante se realizaron para poder determinar si el microorganismo seleccionado, en este caso *S. cerevisiae* es resistente a altas concentraciones del colorante Negro 22. De acuerdo con lo mencionado por Santillán et al. (2018) los colorantes azoicos son tóxicos, por lo tanto, concentraciones altas del colorante

pueden llegar a afectar el crecimiento de diversos microorganismos. Como se observa en la (Figura 3) *S. cerevisiae* es resistente al colorante Negro 22 grado comercial, en al menos 500 ppm lo que nos indica que su empleo como microorganismo para la remoción de colorantes de tipo azoicos es posible.

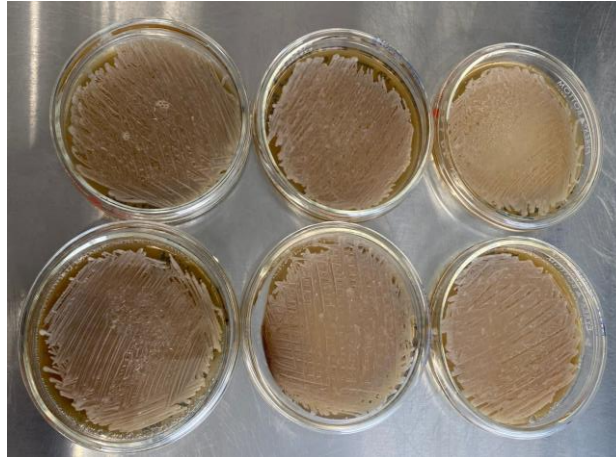


Figura 3. Pruebas de tolerancia en medio YPD con distintas concentraciones (250 ppm, 350 ppm y 500 ppm) de colorante Negro 22 inoculados con *S. cerevisiae* por siembra masiva después de 24 horas de incubación a 28 °C. Se observa crecimiento en todas las placas, lo que significa que *S. cerevisiae* es resistente al colorante Negro 22.

Kunitou et al. (2002) realizaron pruebas de fotodegradación de distintos colorantes azoicos por medio de lámparas de mercurio y luz ultravioleta, donde se arroja que únicamente tienen una disminución en presencia de azúcares. Como se observa en

la (Figura 4), la prueba de fotosensibilidad no demuestra de manera cualitativa un cambio en la intensidad de color del colorante Negro 22, lo que nos refiere a que dicho colorante no es fotosensible a temperatura ambiente (Juárez, 2015; Pérez, 2016)

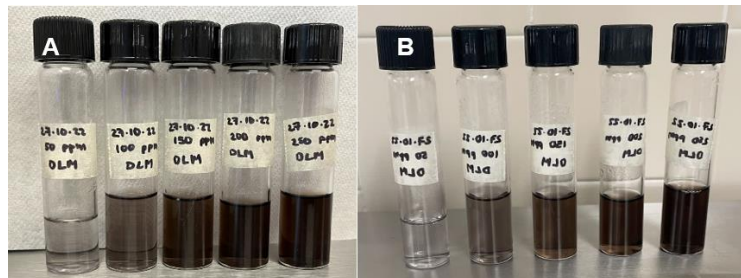


Figura 4. Prueba de fotosensibilidad del colorante Negro 22 a distintas concentraciones, incubada a temperatura ambiente y sin agitación por 8 días con exposición a la luz. A) inicio de la prueba, B) finalización de la prueba

Al exponer a la levadura *S. cerevisiae* al colorante antes de los tratamientos, se buscó disminuir el nivel de estrés que la levadura experimentaría al entrar en contacto con una sustancia tóxica. Esta estrategia se ha respaldado en estudios previos, como el realizado por Albarracín (2020), donde se encontró que la pre-exposición a sustancias tóxicas puede preparar a los microorganismos para enfrentar mejor el estrés y mejorar su

capacidad para eliminar contaminantes. Al eliminar el estrés adaptativo como un factor que contribuye al porcentaje de remoción del colorante, se puede tener una evaluación más precisa de la eficacia del tratamiento. Esto significa que el porcentaje de remoción del colorante refleja principalmente la capacidad intrínseca de la levadura para adsorber el colorante, sin verse influido por adaptaciones previas.

Artículos

La Figura 5 refleja de forma visual el comportamiento de los matraces experimentales a lo largo del tiempo, donde se observa que los matraces se mantienen estables durante todo el experimento, lo que

sugiere que las condiciones experimentales se mantuvieron constantes y que no hubo anomalías significativas que pudieran afectar la interpretación de los resultados.

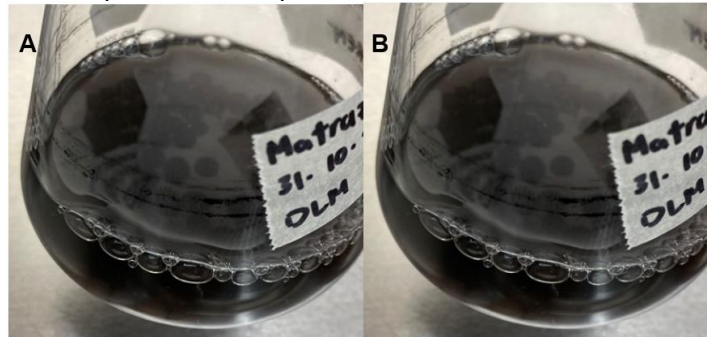


Figura 5. Observación de los matraces al día 8 de tratamiento. Medio y colorante a 500 ppm con pellets de biomasa de *S. cerevisiae* inmovilizada en alginato de calcio. incubados a 28 °C y en agitación por 125 rpm. "A": matraz 1, "B": matraz 2.

En la Figura 6 se determina que el tercer día del experimento fue el punto donde se observó la mayor remoción del colorante, alcanzando aproximadamente un 54.61%. Sin embargo, después de este tiempo, se observa un aumento en las concentraciones del colorante y una disminución en el porcentaje de remoción. Este fenómeno podría explicarse por la acción de enzimas metabólicas como peroxidasas y oxidasas presentes en la levadura *S. cerevisiae*. Estas

podrían estar descomponiendo la estructura del colorante en compuestos más pequeños durante el proceso de remoción, lo que a su vez podría generar metabolitos secundarios que podrían afectar la eficiencia de la remoción. Es importante tener en cuenta este efecto metabólico al diseñar estrategias para mejorar la eficacia de la remoción del colorante en futuros experimentos.

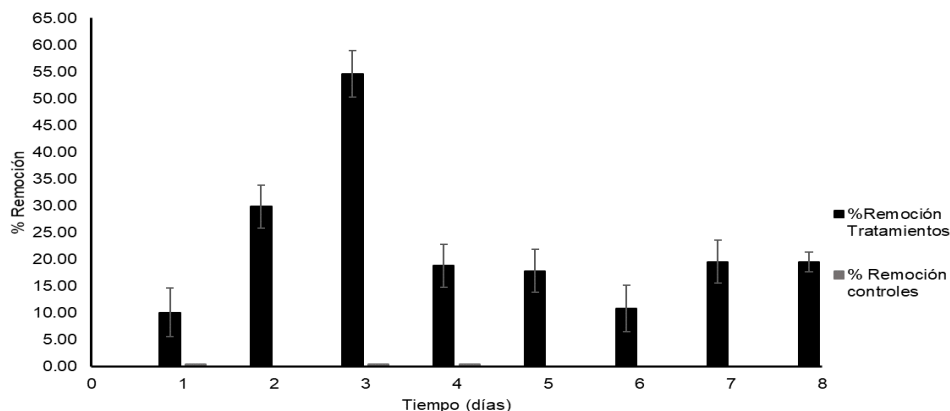


Figura 6. Resultados del % de remoción del colorante negro 22 usando *S. cerevisiae* inmovilizada en perlas de alginato durante 8 días de tratamiento, en agitación a 125 rpm e incubado a 28°C.

A pesar de que se obtuvieron porcentajes de remoción de colorante distintos a los valores reportados por otros estudios previos, se considera que la levadura *S. cerevisiae* posee un potencial significativo para ser utilizado como agente de remoción de colorantes azoicos. Esto sugiere que, con ajustes en las condiciones experimentales (como la temperatura, la agitación y tiempo de tratamiento), se podría optimizar su

desempeño. De igual forma, es importante destacar que esta levadura, de categoría "GRAS", es un microorganismo seguro para su uso en aplicaciones industriales y ambientales, lo que en combinación con su capacidad para remover colorantes, sugiere que podría ser una alternativa eficiente para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con colorantes azoicos.

Conclusión

En este caso se logró la remoción del colorante textil negro 22 grado comercial por medio de la inmovilización de *S. cerevisiae* en perlas de alginato, alcanzando un 54.6% de remoción. Se observa que *S. cerevisiae* es tolerante a la toxicidad del colorante azo, lo que confirma que es un microorganismo adecuado para continuar con los estudios de remoción de diferentes sustancias.

Perspectivas

Con base a los resultados obtenidos, se recomendaría hacer estudios posteriores para la identificación de posibles metabolitos secundarios generados por las reacciones enzimáticas entre la levadura *S. cerevisiae* y la estructura del colorante azoico.

Referencias

Albarracín K (2020) Estudio de parámetros para la propagación de las cepas de Levadura cervecera *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces carlsbergensis* para la Fabricación de Cerveza Artesana. Tesis Maestría en Ingeniería Química. Universidad Politécnica de Madrid: Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales. pp. 1-98

Al-Tohamy R, Kenawy E, Sun J, Ali S (2020). Performance of a Newly Isolated Salt-Tolerant Yeast Strain *Sterigmatomyces halophilus* SSA-1575 for Azo Dye Decolorization and Detoxification. *Frontiers in Microbiology*, 11(1163), pp. 1-19. <https://doi:10.3389/fmicb.2020.01163>

Avendaño GC, López A & Palou E (2013) Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos* 7(1): 87-96.

Azeez R, & Al-Zuhairi F (2022). Biosorption of dye by immobilized yeast cells on the surface of magnetic nanoparticles. *Alexandria Engineering Journal*, 61(7), pp. 5213-5222.

Banu RJ, Shin H, Bharagava RN & Saratale GD (2020) Textile Industry Wastewaters as Major Sources of Environmental Contamination: Bioremediation Approaches for Its Degradation and Detoxification. *Bioremediation of Industrial Waste for Environmental Safety*. In: Saxena, G., Bharagava, R. (eds). Springer, Singapore.

https://doi.org/10.1007/978-981-13-1891-7_7

Bolivar M, Gaviria A, López L (2023). Evaluación del potencial de levaduras nativas aisladas de aguas residuales industriales para la remoción de colorantes azoicos. *Revista Actualidades Biológicas*, 45(118).

Bulacio Gil NM (2018) Mechanisms involved in the biodecolorization of effluents with yeast from *Trichosporon* genus. Tesis Doctoral en Biotecnología medio ambiental. Universidad Nacional de Tucumán, pp. 1-74

Calderón M (2017). Aplicación de un Sistema Inmovilizado en Esferas de Alginato de Calcio en la Remoción de Fenoles". Tesis Maestro en Ciencias de los Alimentos y Biotecnología. Instituto Tecnológico de Mérida: Ingenierías USBMed, pp. 1-47.

Cortazar A, González C, Coronel C, Escalante J, Castro J (2012). Biotecnología aplicada a la degradación de colorantes de la industria textil. *Universidad y Ciencia*, 28(2), pp. 187-199.

Dastagir, Sameera, S., & Padma, P. (2014). Studies On Immobilized Yeast For Decolorization Of Azo Dyes. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 3, 182-185.

Flórez MCJ, Betancur MQ, Ciro MJ & Betancur SM (2018) Biorremediación del Colorante Negro

Azoico por Levadura Inmovilizada en Gelatina. Tesis Maestro en Ciencias de los Alimentos y Biotecnología. Instituto Tecnológico de Mérida: Ingenierías USBMed, 9(1). pp.30-38. <https://doi.org/10.21500/20275846.3199>

Giovanella P, Vieira G, Ramos I, Pellicer E, et al (2019). Metal and organic pollutants bioremediation by extremophile microorganisms. *Journal of Hazardous Materials*. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.12102>

Hernandez A (2011) Inmovilización de microorganismos en esferas de alginato como protección contra condiciones adversas en tratamiento de agua residual. Tesis Maestría

Artículos

en Ciencias. Centro de investigaciones biológicas del noroeste, S.C. pp. 1-67

Hernández K, Morales G, Flores R, González T & Leonardo R (2021) Cinética de la fotodegradación del colorante azo azul reactivo 69. Revista Tendencias en Docencia e Investigación Química, 7(7). pp. 243-250.

Juárez D (2015) Estudio de la fotorreacción de colorantes azoicos en azúcares. Tesis Maestría en Tecnología Avanzada. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada. pp. 10-18

Kunitou K, Maeda S, Hongyou K & Mishima K (2002) Effect of Glucose on Photocatalytic Decolorization of Dyes by TiO₂. Can J. Chem. Eng, 80, pp. 208-213

Kordialik-Bogacka E (2014). *Saccharomyces pastorianus* immobilized on brewer's spent grain in a continuous system for lead ion biosorption. International Biodeterioration and Biodegradation 96: 191-197.
<http://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.09.018>

López H & Pincay J (2020) Evaluación de la Eficiencia de Bioadsorción de Cáscara de Banana (*Musa x paradisiaca*) para la Remoción de Plomo en Aguas Residuales de la Lubricadora "Lubriautos Mafriss". Tesis Nivel Licenciatura en Ingeniería en Medio Ambiente. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. pp. 1-47.

Matúš P, Littera P, Farkas B & Urík M (2023) Review on performance of *Aspergillus* and *Penicillium* species in biodegradation of organochlorine and organophosphorus pesticides. Microorganisms 11(6): 1485.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11061485>

Moreno S & Ramos-Clamont G (2018) Descontaminación de Arsénico, Cadmio y Plomo en Agua por Biosorción con *Saccharomyces cerevisiae*. TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas 21: 51-68.
<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.155>

Mupa M, Kubara R, & Gere J (2018). Extraction, growth and immobilization of

Yarrowia lipolytica yeast cells for dye effluent treatment. Archives of Environmental Protection, 44(1).

Najares J (2014) Biodegradation Perspectives of Azo Dyes by Yeasts. Microbiology, 83: 488-497. Pleiades Publishing.

Oxoid. (2021) Agar PDA para la Biología Molecular. Oxoid. Recuperado de:
<https://www.fishersci.es/store/msds?partNumber=10197602&productDescription=500+GR+POTATO+DEXTROSE+AGAR+POWDER+500+G&countryCode=ES&language=es>

Pérez J (2016) Estudio de la degradación de colorantes azoicos mediante la combinación de un proceso foto-fenton asistido con ferrioxalato y un proceso biológico anaerobio. Tesis Nivel Licenciatura en Ingeniería Química. Escuela Politécnica Nacional. pp. 1-25

Puentes Camacho, D. (2011). Determinación de parámetros de un modelo axial y en estado transitorio de la biosorción de azul de metileno mediante biomasa de *saccharomyces cerevisiae* inmovilizada en alginato de calcio en columna empacada. Tesis Doctoral: Universidad Autónoma de Nuevo León.

Roth (2021) Caldo YPD para la Biología Molecular. Roth. Recuperado de:
<https://www.carlroth.com/medias/SDB-X970-ES-ES.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyMjg3Mzh8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oZDlv aGU0LzkwNTU1MzYxODUzNzQucG RmfDZhYjQ5NDJhYTJjNzIxZTM1ZjI hYWM0NmQwZmRkNzQ0M2Y2N2M 4N2Y0YTM4Y2ZjNjE5ODU0YjdlNjJl MjJiMmQ>

Roth (2021) Agar YPD para la Biología Molecular. Roth. Recuperado de:
<https://www.carlroth.com/medias/SDB-X971-ES-ES.pdf?context=bWFzdGVyfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0c3wyMjg3NDV8YXBwbGljYXRpb24vcGRmfHNIY3VyaXR5RGF0YXNoZWV0cy9oM2E vaDc5LzkwNTU1MzYyMTgxNDIucG RmfDRhYjliOTY0ZGZkYjBIOWZjNzN>

Artículos

[kNDcyMWFmMjRhZGQ3ZDI1M2JIN
mZiNTY4OGRI MmMwZGYzZWYwM
TRiMWYzYjQ](https://doi.org/10.1186/s40643-022-00507-5)

Ruscasso F (2022) Antarctic yeasts: potential use in a biologic treatment of textile azo dyes –Bioresources and Bioprocessing. SpringerOpen.
<https://doi.org/10.1186/s40643-022-00507-5>

Santillán F & Maza M (2018) Remoción de colorantes azoicos rojo allura (rojo 40) mediante el uso de perlas de quitosano magnetizadas en medio acuoso. Revista de la Sociedad Química del Perú, 84(1), 18–26.

Tovar O, Pinedo A & del Rosario Sun-Kou M (2016) Adsorción de colorantes textiles azoicos empleando arcillas pilaradas con aluminio. El impacto de la Integración Disciplinaria de la Ingeniería y las Ciencias Químicas, en la Innovación y el Desarrollo Sostenible, México.

Tsang C, Tang J, Lau S & Woo P (2018) Taxonomy and Evolution of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* in the omics era – Past, present and future. Computational and Structural Biotechnology Journal.
<https://doi.org/10.1016/j.csbj.2018.05.003>

Vatandoostarani S (2017) Degradation of azo dye methyl red by *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763. International Biodeterioration & Biodegradation 125. pp.62-72.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.08.009>

Aprovechamiento biotecnológico de la Quitina de los desechos de crustáceos

Vanessa Verduzco*, Ariadna Ávila, Francisco Jiménez, Alejandro Díaz Izabal.

División de ciencias de la salud, Biológicas y ambientales. Universidad abierta y a Distancia de México. Av. Universidad 1200. Piso 1 cuadrante 1-21. Col. Xoco, Alcaldía Benito Juárez, C.P 03330. Ciudad de México.

División de ingeniería en industrias alimentarias. Instituto Tecnológico Superior de Eldorado. Avenida Tecnológico S/N, col. Rubén, Jaramillo, 80450 Eldorado, Sinaloa. Departamento Académico de pesquerías. Universidad Autónoma de Baja California Sur Km 5.5. Col. Mezquitillo. La Paz, BCS.

VanessaLVL@nube.unadmexico.mx, a.avila@uabcs.mx, fj.jimenez@uabcs.mx, Alejandro.diaziza@nube.unadmexico.mx

Resumen

La quitina es un polisacárido natural que se encuentra en los exoesqueletos de los crustáceos, tiene varios usos en las industrias, por ejemplo, como floculante en tratamiento de agua, agente para curar heridas, este sector contribuye con más de 3.9 millones de toneladas, con un valor comercial alto para la producción de la acuicultura, la quitina no es aprovechada como subproducto principal, lo que propicia que se desperdicie una fuente importante del desecho de estos productos. Esto, puede ser una forma viable para obtener ganancia para las mismas empresas aportando con su uso un menor impacto ambiental. Por ello, mediante una revisión bibliográfica exhaustiva, se elaboró un catálogo de recursos de aprovechamiento biotecnológico de la quitina de los crustáceos utilizados en la industria pesquera como alternativa ecológica a la contaminación del ambiente y como una en la industria pesquera como alternativa ecológica a la contaminación del ambiente y como una opción viable para la degradación por agentes contaminantes. Además, se abordó las técnicas y métodos que se utilizan para obtenerla, las aplicaciones en donde puede ser aprovechada biotecnológicamente y sobre cómo se puede corregir el destino o disposición final de los residuos de los crustáceos que se desechan en las industrias pesqueras y restaurantes de comida marina, con el fin de dar una idea completa y concisa como propuesta para su implementación como una estrategia ecológica y económica de recolección de residuos de crustáceos.

Palabras Claves: *Quitina, derivados, crustáceos, extracción, aplicaciones, biotecnología.*

Abstract

Chitin is a natural polysaccharide found in the exoskeletons of crustaceans, insects and arachnids, as well as in the cell walls of fungi, and is the second most abundant polymer on earth after cellulose. It has several uses, among them, in different areas of industry as a flocculant in water treatment, as a wound healing agent, as a thickener and stabilizer in food in medicines. However, in the case of crustaceans, which are one of the most used products in the industry, mainly for human consumption, contributing with more than 3.9 millions tons, with a high commercial value for aquaculture production, chitin is not used as a mainly by-product, which leads to the waste of an important source of these products. This could be a viable way to obtain profit for the companies themselves, contributing with its use to a lower environmental impact. Therefore, through an exhaustive bibliographic review, a catalog of resources for the biotechnological use of crustacean chitin used in the fishing industry was prepared as an ecological alternative to environmental pollution and as a viable option for degradation by polluting agents. In addition, the techniques and methods used to obtain it, the applications where it can be used biotechnologically and how the final destination or disposal of crustacean waste discarded in the fishing industry and seafood restaurant can be corrected, in order to give a complete and concise idea as a proposal for its implementation as an ecological and economic strategy for the collection of crustacean waste.

Key Words: *Chitin, derivatives, crustaceans, extraction, applications, biotechnology.*

Introducción

La quitina es el segundo biopolímero más abundante de la tierra seguido de la celulosa, se puede encontrar en grandes cantidades por todo el mundo. Los crustáceos son la fuente que más la produce, se estima que existe una producción global de quitina de 200 billones de toneladas métricas anuales (Chen & Yan, 2020). La organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), menciona que en el año 2018 el aumento en la producción mundial de pescado en la acuicultura alcanzó a los 82.1

millones de toneladas, y dentro de ésta los crustáceos aumentaron a 9.4 millones de toneladas (FAO, 2020). Siendo que en el año 2008 y 2012 hubo 5 y 6.4 millones de toneladas de crustáceos respectivamente (FAO, 2010; FAO, 2014). Por lo tanto, la tendencia de este producto generado cada vez incrementa, en la figura 1 se muestra estadísticamente el aumento que ha tenido los crustáceos del 2008 hasta el 2018, siendo esta una gran área de oportunidad para el aprovechamiento de materia como la quitina en distintos sectores.

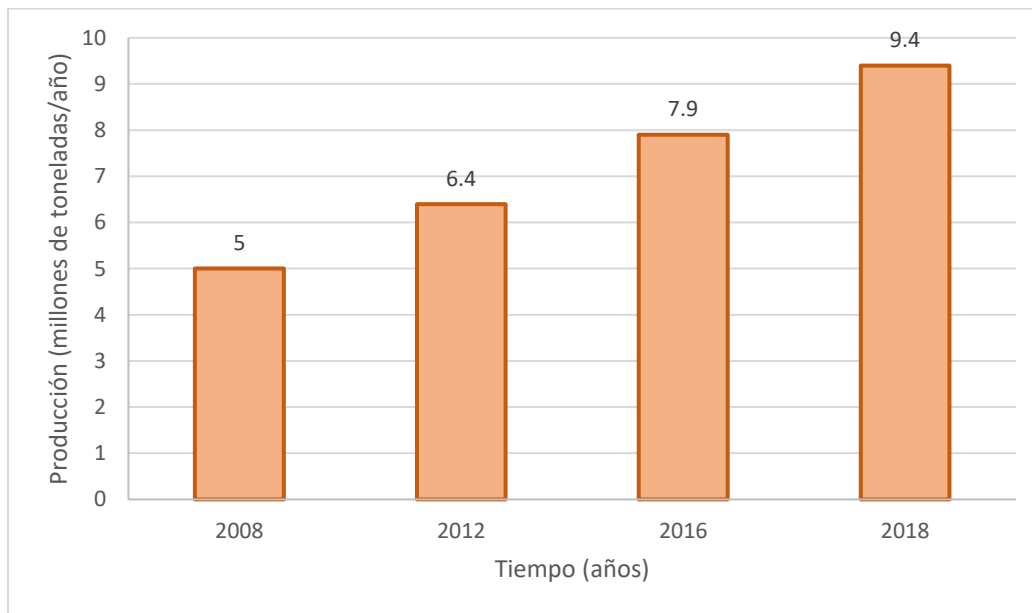


Figura 1. Incremento que han tenido la producción mundial en la acuicultura desde el año 2008 hasta el 2018 de acuerdo a los reportes de la FAO.

Las cifras mencionadas solo se refieren al consumo humano; se excluye los usos no alimentarios, por lo que la cifra es aún mayor. Se conoce que se desperdicia el 35% de la captura, la FAO (2020), estima que oscila entre 30 y 50%. Actualmente, un estudio de la FAO estimó que los descartes anuales de la pesca de captura marina mundial de los años 2010 a 2014 fue de 9.1 millones de toneladas (IC del 95%: 6.7 a 16.1 millones de toneladas), representado un $10.8\% \pm 0.7\%$ de la captura media anual de 2010 hasta 2014; donde el 46% (4.2 millones de toneladas) de los descartes anuales totales procedieron de redes de arrastre. Sin embargo, las pesquerías que se encargan de los crustáceos tuvieron las tasas de descartes más alta con una cantidad de 1,483,825 toneladas (Pérez-Roda et al., 2019).

Por lo tanto, existe un incremento en la producción de crustáceos y por ende un incremento de los desechos de las industrias pesqueras o restaurantes de comida marina que demandan el producto, impactando negativamente en el medio ambiente, por ejemplo, provocando mal olor, resultando un foco de infección y finalmente provocando daños en la salud humana. En cambio, sí se propusieran estrategias de aprovechamiento a estos desechos para que tengan utilidad en una aplicación como la extracción de la quitina que se encuentra en el exoesqueleto y el cefalotórax de especies de crustáceos como gambas o camarones que se desperdician día tras día, llegando a ser grandes toneladas en todo el mundo, sin pensar que estos contienen quitina, proteínas, lípidos y pigmentos que

podrían tener un gran valor comercial (Cabanillas-Bojórquez et al., 2020).

Por el área de oportunidad indicada, que es el aprovechamiento de la quitina, se plantea como objetivo efectuar una revisión bibliográfica para elaborar un catálogo sobre el aprovechamiento de la quitina de los desechos de los crustáceos con el fin de idear un plan de recolección de estos para hacerlos llegar a una empresa que se dedique a la recolección, manipulación en la materia prima y en la entrega de esta a las empresas productoras de quitina y derivados.

Materiales y Métodos

Se llevó a cabo una revisión bibliográfica en diferentes revistas científicas online sobre el conocimiento acerca de la quitina y su aprovechamiento en las diferentes áreas.

La búsqueda fue por medio del motor científico de Google académico, la página de la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura (FAO) y de la base de datos de PubMed, MDPI, Springer Link, ProQuest, ResearchGate, Scielo, Elsevier, revistas internacionales como: Hrcak, Egyptian Journal o Aquatic Biology and Fisheries, Conscientia Beam, CONICET, CAMJOL, Frontiers, Wiley, entre otras. Las referencias bibliográficas comprenden un rango de tiempo de 10 años. Se recopiló información de los métodos de extracción que se utilizan para obtener la quitina y se analizaron los principales, considerando las ventajas y desventajas respecto a la afectación al medio ambiente. Además, se realizaron síntesis para generar tablas que integraran la información. Posteriormente se concentró información de los usos y aplicaciones describiendo las áreas en donde se encuentra aplicada la quitina y los derivados. Con ello, se elaboró un catálogo de las aplicaciones en forma de listado.

Finalmente se realizó un plan de recolección de los desechos de crustáceos enfocados

para una empresa que lo requiera realizar y poder distribuir la materia prima de la quitina considerando las normas ambientales.

Resultados

Estudios muestran que los desechos de camarones Crangon son de 24 a 46% de quitina, de 31 a 44% de minerales y de 10 a 38% de proteínas. Sin embargo, el contenido de quitina puede variar según la fuente y la especie (Bajaj et al., 2011). Viendo esto, si los desechos de los crustáceos se aprovecharan habría más aplicaciones de la quitina; hoy en día se encuentra en medicina, farmacéutica, cosmética, tratamiento de agua, alimentos, nanotecnología, entre otras áreas (Divya & Jisha, 2018; Thamilarasan et al., 2018; Santos et al., 2020). De modo que, teniendo las herramientas y las tecnologías necesarias, se podrá alcanzar a futuro, que la quitina de los desechos de los crustáceos sea utilizada y se posiciona como el biopolímero importante del mundo por sus amplias aplicaciones.

Extracción de quitina

Existen dos métodos de extracción de quitina del exoesqueleto, el químico y el biológico. La mayoría de las empresas utilizan el método químico, basado por ácidos y bases (NaOH y HCl), pero al utilizar este método representa un gran costo ambiental, además de tener un menor rendimiento de extracción y un peso molecular bajo (Castro et al., 2018); mientras que el biológico emplea microorganismos, donde por medio de la fermentación se realiza este proceso. El método biológico es una forma viable, económica y ecológica para extraer la quitina de alta calidad, además de poder recuperar proteínas y otros derivados, como se muestra en la tabla 1, donde se puede observar la recopilación obtenida en este trabajo de investigación de varios autores donde usaron el método biológico y el químico para extraerla (Arbia et al., 2013; Kaur & Dhillon, 2015; Alabaraoye et al., 2018).

Tabla 1. Métodos de extracción químico y biológico de quitina y sus respectivos procesos descritos por diferentes autores.

Método	Proceso	Autor
Químico	Despigmentación (acetona o lavandina) Descarbonatación (medio ácido). Desproteínización (medio alcalino). Lavado con abundante agua y filtrado Obtención de quitina.	Zaritzky et al., 2014
Químico	Desproteínización (solución de NaOH al 3.5% a 95°C). Filtración y neutralización con agua destilada.	

Artículos

	Desmineralización (solución de HCl 2N) Purificación con NaOH al 2% a 100°C durante 1h. Filtración, lavado y secado a 70°C.	
Biológico	Adición de melaza, glucosa o sacarosa como fuente de carbono al 5,10, 15 o 20% p/p. ajuste de pH con ácido acético 6±0.1 Se inocula con <i>L. plantarum</i> sp. 47 (0, 5, 10,15 o 20% v/p) y se incuba a 32°C. Se obtiene quitina a las 0, 24, 48 y 60h de fermentación. El ensilado se diluye con agua destilada y se filtra, reteniendo la fracción sólida. Los sólidos obtenidos se blanquean usando una solución de metanol-cloroformo-agua.	Castro et al., 2018
Químico	Desproteínización (solución de NaOH 1M durante 3h a temperatura 80-90°C, con agitación continua y una relación de sólidos a disolvente de 1:10 (w v-1). Desmineralización (HCl 1N durante 2 h) a temperatura ambiente y una relación de sólidos a disolvente de 1:15 (w v-1). Se filtró y se lavó hasta neutralidad con agua. La quitina se secó durante la noche a 60°C en un horno.	Chakravarty et al., 2018
Biológico	10 gr de polvo caparazón de langosta a 50mL de agua suplementada con 5% de glucosa e inoculado con 10% de <i>B. megaterium</i> y se incubo a 30° con agitación (180 rpm) durante 96h. Inoculación simultánea de una bacteria productora de proteasa de <i>B. megaterium</i> incubados a 37°C con agitado de 180 rpm. Incubación de 6 días, se extrajo la quitina.	
Químico	Conchas lavadas con agua pura y se seca a 60°C. Desproteínización (NaOH al 3.5% a 65°C durante 2 horas). Desmineralización (HCl 1N a temperatura ambiente durante 7 horas). Despigmentación (El residuo de quitina se trató con H ₂ O ₂ /HCl 10:1 y se secó.	Kücükgülmez, 2018
Biológico	Desproteínización se usó p <i>Brevibacillus parabrevis</i> TKU046 al 3% (p/v) materia prima de camarón, temperatura a 37°C y agitación de 150 rpm. Fermentación por 4 días.	Doan et al., 2019.
Químico	Los residuos de camarón lavados con agua corriente y después con solución de hipoclorito de sodio al 2.5% durante 48 hrs. Después se secaron en estufa a 80°C durante 4 hrs. Se pulverizo en licuadora industrial y se pasó por un tejido de malla 16,32 y 60. Desmineralización (solución de HCl al 2% (v/v) (10:1 v/p), temperatura de 30° durante 12 hrs. La fracción insoluble en álcali se separó mediante centrifugación a 4000 g durante 15 minutos. El precipitado se lavó 4 veces con agua destilada. Desproteínización (solución de NaOH al 4% (p/v) (10:1 v/p) a 90°C durante 12 hrs.	Santos et al., 2019

Artículos

	Se hace nuevamente el mismo procedimiento del paso anterior y se secaron durante la noche a 40°C.	
Químico	Desproteínización (NaOH 0.125-2.5, Temp. 65-100 °C y T=1-72h). Desmineralización (HCl 0.275-2, Temp. 100°C y T=1-48 h). Decoloración (NaClO/HCl, H ₂ O ₂ 15%v/v, Temp. 25°C y T=15 min) Despigmentación (lavado con agua, Temp. 80°C y T=12 h). Secado y molienda. Obtención de quitina	Romero-Serrano y Pereira, 2020.
Biológico	Desproteínización enzimática (bacteria proteolítica o enzima comercial). Desmineralización por fermentación (bacteria ácido láctico). Secado y molienda. Obtención de quitina	
Biológico	Añadición de 575 ml de suero lácteo enriquecido con azúcar morena al 10% p/v (57.5 g). Fermentación batch por 14 días a temperatura ambiente. Obtención de quitina.	Valle-Luquez & Natareno-Alvarado, 2020.
Biológico	Desproteínización cultivo de <i>Lactobacillus rhamnoides</i> (concentración de glucosa al 5%, temperatura 37°C, pH inicial 6.5, nivel de inóculo 4% y tiempo de cultivo 48h). Desmineralización cultivo de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (concentración de glucosa al 4%, temperatura 37°C, pH inicial 6.5, pH final 3.4, nivel de inóculo 6% y tiempo de cultivo 84 h).	Liu et al, 2020 artículo.
Biológico	Desmineralización se usó método basado en la producción in situ de ácido /fermentación láctica. Desproteínización-Tratamiento enzimático con proteasas (obtenidas de procesos biotecnológicos utilizando como materia prima lodos de depuradora crecidos con <i>B. licheniformes</i>) a pH 8.5 y 55°C con baja agitación de 100 rpm y usando una relación E/S de 0.01	Inca-Torres et al, 2021.

En ese caso, para extraer la quitina del exoesqueleto del crustáceo, es necesario pasarlo por etapas, primero se lava, se seca, se muele y se tamiza, luego pasa por el proceso de desproteínización donde se eliminan las proteínas.

En el método químico, se utilizan tratamientos con solución alcalina fuerte para que exista una ruptura de los enlaces químicos entre las proteínas y la quitina, después pasa por el proceso de desmineralización, se realiza con solución ácida para la eliminación de minerales, especialmente para descomponer el carbonato de calcio, y finalmente, el

tratamiento de despigmentación, en este se busca conseguir una quitina pura. En este método se utilizan solventes como acetona para decolorarla, pero se arriesga a que la quitina pierda su calidad (El Knidri et al., 2018; Mohan et al., 2021).

En la figura 2, se muestra un diagrama de método biológico basado y complementado por los diferentes autores. Varios estudios recientes, demuestran con eficacia, con base de experimentación e investigación, como conseguir quitina del exoesqueleto del crustáceo sin dañar las propiedades

Artículos

fisicoquímicas del producto, sin afectar los efluentes de aguas residuales por los contaminantes químicos que llevan en los procesos de la extracción, optando por el

método biológico (Castro et al., 2018, Ghorbel-Bellaaj eta l., 2018; Doan et al., 2019; Gong et al., 2019; Liu et al., 2020; Navarrete-Bolaños et al., 2020).

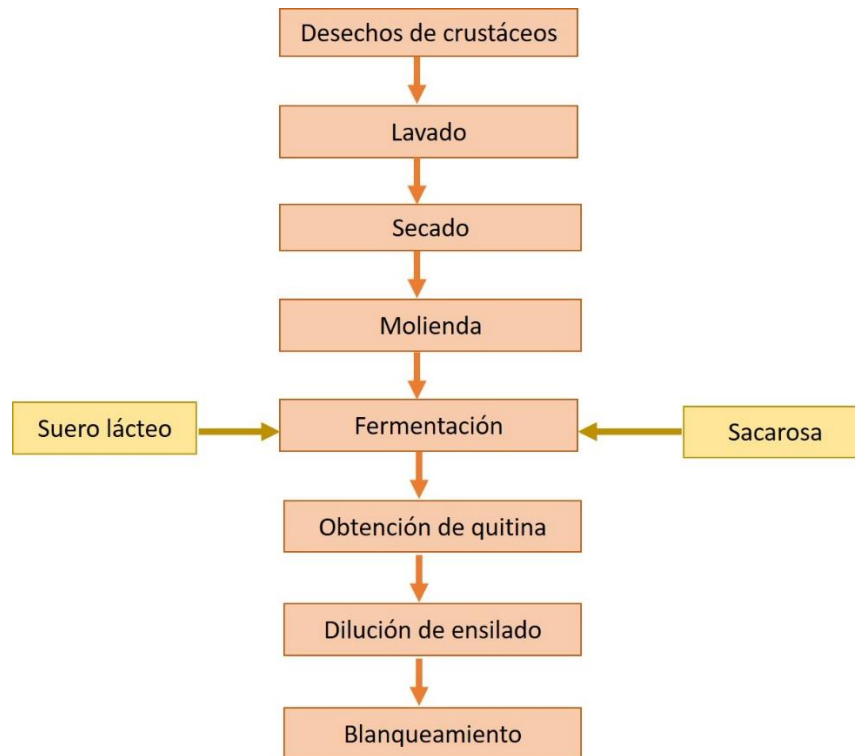


Figura 2. Diagrama de extracción de quitina utilizando fermentación láctica por el método biológico.

Es así, que todos los estudios que se han realizado, han demostrado la eficacia de este método y las ventajas que se puede conseguir si se opta a nivel industrial. Siendo un reto futuro la implementación a gran escala, pues, los estudios solo se han llevado a cabo en condiciones de laboratorio. Por ello, hace falta un impulso para que este nuevo proyecto se expanda aún más y pueda verse nuevas aplicaciones biotecnológicas.

Aplicaciones de la quitina.

Anteriormente se mencionaba que la quitina se puede encontrar en una amplia gama de aplicaciones, por ejemplo, la podemos encontrar en los alimentos como agente clarificante, en medicina sirve para la aceleración en la curación de heridas, en la agricultura ayuda a promover el crecimiento y

desarrollo vegetal en cultivos, en tratamientos de agua como floculante para la remoción de partículas coloidales sólidos y aceites; en el área de los cosméticos para cremas humectantes; en la tabla 2 se muestra una recopilación de más usos y aplicaciones que tiene la quitina (Morganti et al., 2011, Liang et al., 2015; Kaya et al., 2015; polo-Galindo, 2016, Poveda-Arias, 2018, santos et al., 2020). Además, las proteínas y los minerales que se eliminan en los procesos de desmineralización y de desproteínización, se pueden recuperar y también se pueden aprovechar usándose como alimento para animales u otros derivados como la astaxantina, la cual se puede recuperar en el proceso de despigmentación, con ella se puede usar para alimento acuícola, como antioxidante, o como pigmentos en alimentos.

Tabla 2. Aplicaciones y usos de la quitina en las áreas de alimentos, medicina, agricultura, tratamiento de aguas residuales y cosmética.

Área	Uso/aplicación	Autor
Alimentos	Emulsionante	Spagna et al., 1996
	Adsorción de compuestos fenólicos	Shahidi et al., 1999

Artículos

	Agente clarificante Antioxidante Agente espesante Bioconversión para la producción de productos alimentarios de valor añadido Fibra dietética	Caprile, 2005 Rinaudo, 2006 Yen et al., 2009 Kaya et al., 2015 Poveda-Arias, 2018 Santos et al., 2020
Medicina	Aceleración en la curación de heridas producción de suturas quirúrgicas Inhibidor tumoral Regeneración de tejidos Pomadas	Benavides Cuellas, 2002 Caprile, 2005 Lárez-Velázquez, 2006 Francisco-Francisco, 2008 Salazar-Leyva et al., 2014
Agricultura	Promueve el crecimiento y desarrollo vegetal en cultivos Inductor de la resistencia al ataque de plagas y patógenos Estimulación de enzimas defensivas	Lárez-Velázquez, 2006 Francisco-Francisco, 2008 Zulay-Mármol et al., 2011 Wang, 2012 Poveda-Arias, 2018 Santos et al., 2020
Tratamiento de aguas residuales	Floculante para la remoción de partículas coloidales sólidas y aceites Coagulante primario para aguas residuales de alta turbidez y alcalinidad Eliminación de tinte Floculante Tratamiento de lodos y agente de deshidratación	Lárez-Velázquez, 2006 Francisco-Francisco, 2008 Zulay-Mármol et al., 2011 Liang et al., 2015 Poveda-Arias, 2018 Santos et al., 2020
Cosmética	Aditivo bactericida en jabones, champús, crema de afeitar, para la piel, pasta dental, etc. Cremas humectantes Agente hidratante para la piel Nanopartícula para el antienvjecimiento	Lárez-Velázquez, 2006 Francisco-Francisco, 2008 Morganti et al., 2012 Polo-Galindo, 2016 Aranaz et al., 2018 Santos et al., 2020

Por último, el derivado más usado de la quitina es aquel al cual se le realiza una desacetilación y está en la mayoría de las aplicaciones combinada con la quitina, este subproducto se le conoce como quitosano, el cual puede ser usado como conservante en la industria de alimentos, o en la producción de

gasas y vendajes en medicina, incluso en la agricultura como un bactericidas, entre otras aplicaciones más.

En la tabla 3, se muestra más aplicaciones de este derivado y otros (Wang, 2012; Salazar-Leyva, et al 2014; Zaritzky et al., 2014; Aranaz et al., 2018; Gopi et al., 2019; Romero &Pereira, 2020).

Tabla 3. Aplicaciones y usos de los derivados de la quitina en las áreas de alimentos, medicina, agricultura, tratamiento de agua, cosmética y nanotecnología.

Área	Uso/aplicación	Derivado	Autor
Alimentos	recubrimientos comestibles en alimentos	Quitosano	Rabea et al., 2003 Chatterjee et al., 2004
	Aditivos en los alimentos	Quitosano	Gades y Stern, 2005
	Alimentos acuícolas	Astaxantina	Prashanth y Tharanathan, 2007
	Clarificante de jugo	Quitosano	Auerswald & Gäde, 2008
	Conservante	Quitosano	Francisco-Francisco, 2008
	Suplemento dietético	Quitosano	

Artículos

			Zulay-Mármol et al., 2011 Salazar-Leyva et al., 2014
Medicina	Producción de gasas y vendajes	Quitosano	Caprile, 2005
	Anticoagulante	Quitosano	Twu et al., 2005
	Antioxidante	Astaxantina	Lárez-Velázquez, 2006
	Sistemas liberadores de fármacos	Quitosano	Francisco-Francisco, 2008
	Transporte de agentes anticancerígenos	Quitosano	Zaritzky et al., 2014
	Reconstrucción de huesos	Quitosano	Poveda-Arias, 2018 Romero & Pereira, 2020
Agricultura	Recubrimiento de semillas con películas para conservación durante el almacenamiento	Quitosano	Hadwiger et al., 1984 Agboh, 1986 Struszczył et al., 2001b
	Control de fitoplasmas	Quitosano	Caprile, 2005
	Retardación de la maduración de frutos	Quitosano	Lárez-Velázquez, 2006
	Bactericida	Quitosano	Francisco-Francisco, 2008
	Protección post-cosecha	Quitosano	Santos et al., 2020
Tratamiento de aguas	Captura de metales pesados y pesticidas en soluciones acuosas	Quitosano	Pellegrino et al, 1990 Lee et al., 1997 Liu y Yao, 2002
	Floculante	Quitosano	Lárez-Velázquez, 2006
	Coagulante	Quitosano	Francisco-Francisco, 2008
	Filtración	Quitosano	Zulay-Mármol et al., 2011
	Eliminación de iones metálicos	Quitosano	Gopi et al., 2019
	Disnitrificación biológica	Quitosano	
Cosmética	Fabricación de cápsulas para adelgazar	Quitosano	Muzzarello, 1989
	Pigmentos	Astaxantina	Lárez-Velázquez, 2006
	Espumas de afeitar	Quitosano	Lu et al., 2007
	Cremas para la piel y el cuerpo	Quitosano	Pattanaik et al., 2020
	Polvos maquilladores	Quitosano	Francisco-Francisco, 2008
	Esmaltes para uñas		Zaritzky et al., 2018 Poveda-Arias, 2018
Nanotecnología	Nanowhiskas	Astaxantina	Campos, 2016

Plan de estrategia

Si las empresas productoras de quitina se enfocaran en reunir los desechos de los crustáceos de las industrias pesqueras y restaurantes de comida marina, podrían obtener mayor accesibilidad a ellos para extraer y obtener la quitina.

Por ello, en este estudio, se describe una propuesta de un plan de estrategia para la recolección de desechos de crustáceos, que consiste en que una empresa envíe un camión recolector de desechos de crustáceos a las industrias pesqueras y restaurantes de comida marina para recoger lo que han almacenado ciertos comercios, y este llevarlos a la empresa. Para ello, se deben

contar con los equipos necesarios, para almacenar, lavar, secar, moler y tamizar los desechos de crustáceos y sacar provecho de estos, facilitándoselos a las empresas productoras de quitina o a las áreas de investigación. El plan de recolección de desechos de crustáceos tiene los siguientes pasos: (a) Identificación de desechos: se pondrán en una bolsa todos los desechos de crustáceos solamente, sin líquido ni otros desperdicios, y deberá estar bien sellada al final del día; (b) Almacenamiento: La bolsa se tendrá que almacenar en congelación hasta el día de recolección; (c) Recolección: Se entrega al encargado de recolectar, y este

Artículos

dirigirá la bolsa a su disposición final, que será a la empresa dedicada a la recolección. Con este plan, se benefician tres partes: 1) las industrias pesqueras y restaurantes, deshaciéndose de lo que, para ellos solo es basura, o desechos, recibiendo una bonificación a cambio, 2) las empresas encargadas de la recolección quienes serán las que distribuirán los desechos de crustáceos a las empresas productoras de quitina y 3) el medio ambiente, porque se estará disminuyendo la problemática ambiental y más cuando se utiliza el método biológico. Solo es cuestión de idear cuales serían las ganancias para cada uno. Las industrias pesqueras y los restaurantes de

comida marina pueden escoger cada cuando se podría pasar el camión recolector, solamente sí se siguen las instrucciones de envasado y almacenado de los desechos. Se le puede pagar con lo que pese la bolsa o contenedor, pero se les descontará si al llegar a revisión no viene clasificado como debe ser. Por otro lado, la empresa encargada de la recolección podrá encargarse de: descongelar los desechos, lavarlos, revisar y escoger que solo existan crustáceos y descartar cualquier otro residuo, secarlos, molerlos y tamizarlos y empaquetar el polvo; con esto, se podrá vender y distribuir la materia prima a las empresas que se dediquen a la extracción de quitina, facilitándoles este trabajo (Figura 3).

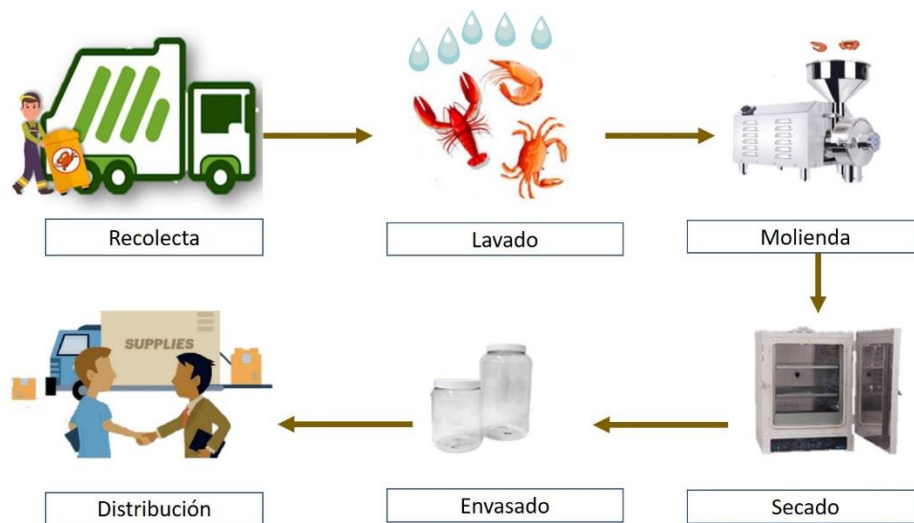


Figura 3. Plan de los procesos por el cual la empresa recolectora podrá realizar para poder distribuir la materia prima de la quitina.

Discusión

En la actualidad, se sigue estudiando la quitina de los crustáceos para aprovechar y aumentar el número de nuevas aplicaciones biotecnológicas, por ejemplo, la industria biomédica, Larbi et al., (2018), realizaron una comparación sobre la citotoxicidad de nanocristales ya que el estudio demostró con líneas celulares similares a epiteliales y fibroblastos de que no tienen efecto citotóxico. Para el tratamiento de aguas, Rech et al., (2019), realizaron una investigación donde analizaron una combinación de cáscaras de camarón natural y de quitina comercial como bioabsorbentes para eliminar metales pesados de la escorrentía superficial y resolviendo dos problemáticas ambientales en gestión de los desechos de peces y la calidad de la escorrentía superficial. Por otro lado,

Silva et al., (2020), realizaron una estrategia innovadora y sostenible para producir esponjas mezcladas compuestas de fibroína de proteína de seda proveniente de *Antheraea pernyi* y quitina de crustáceos esto serviría para el área de medicina regenerativa, para las aplicaciones de ingeniería de tejidos. Además también se puede encontrar revisiones abarcando la importancia que tiene la quitina en las diferentes áreas y sus avances, como lo muestra Casadidio et al., (2019) donde realizaron una revisión presentando avanzados a base de quitina y quitosanos, analizando diferentes aspectos terapéuticos en el cuidado de la piel, el cabello, las uñas y la boca. Khrunyk et al., (2020), informan sobre los avances en la investigación moderna de biomateriales marinos en sus diferentes formas y campos de aplicación durante los últimos diez años.

Incluso, en Asia le dan importancia a este tema, pues Tan et al. (2022), realizaron una revisión donde se discute las tendencias más recientes en la gestión de residuos de mariscos como fuentes de quitina, conversión de quitina a quitosano, los aspectos económicos del tratamiento de residuos y la aplicación del quitosano.

Aunado a esto, del 2018 hasta el día de hoy, según Google académico, hay más de 1000 artículos relacionados con la quitina de los crustáceos, entre ellos se muestran técnicas de extracción, por ejemplo, Boric et al., (2020), aislaron quitina a partir de desechos de crustáceos utilizando en la desmineralización ácidos orgánicos y en la desproteización utilizaron un proceso híbrido compuesto por plasma de descarga de barrera dieléctrica a presión atmosférica. Los resultados mostraron que la integración de plasma a base de nitrógeno y desmineralización con ácido láctico permitió la eliminación del 90% de las proteínas y asegura la eliminación completa de minerales de los desechos de caparzones de camarón. Por otro lado, Bradic et al., (2020), proporcionó una evaluación completa para la recuperación de biomateriales de valor añadido a partir de los abundantes residuos de biomasa de cáscara de camarón utilizando disolventes eutécticos profundos naturales (NADES). El resultado que tuvo fue que el mayor rendimiento de extracción de quitina obtenido fue <90% utilizando cloruro de colina-ácido láctico, lo que llevó a una pureza superior al 98%. Además, se menciona que se puede reciclar este NADES varias veces, sin perder la capacidad de fraccionamiento de la cáscara de camarón. Otra técnica, es la que se han diseñado Ismail & Emran (2020), donde la producción de quitina-oligosacáridos se realizó mediante la hidrólisis bacteriana directa de subproductos de camarón utilizando *Bacillus cereus* cepa SSW1, logrando una optimización secuencial del proceso de hidrólisis aplicando el diseño de Plackett-Burman seguido del diseño compuesto central.

Por lo que demuestra que aún sigue en auge el aprovechamiento de la quitina en los desechos de los crustáceos y que se puede ver la importancia que tiene en diferentes lugares del mundo, como en Rusia, Brasil, Asia, Egipto, Perú, Ecuador, Venezuela,

Estados Unidos, Chile, entre otros (Casadidio et al., 2019; Puma & Soria, 2021).

Con respecto a la propuesta de recolección de desechos de crustáceos, es necesario que se pueda seguir investigando acerca del costo total que se llevaría al conseguir una empresa que se dedique a recolectar y tratar los desechos para hacerlos materia prima y distribuirlos a las empresas que se dediquen a la extracción de quitina y derivados; y más aún si son extraídos biotecnológicamente, por lo que se considera fácil, sencillo y ecológicamente viable.

Conclusiones

La quitina es utilizada en diversas áreas, como la medicina, farmacéutica, alimentos, tratamiento de agua, cosmética, nanotecnología, entre otras más, dando lugar a diferentes aplicaciones y subproductos o derivados con valor comercial, se puede utilizar como coagulante, antioxidante, bactericida, espesante, etc. Por lo que lo hace un biopolímero con un alto potencial en el mercado y más si se consigue una quitina de alta calidad con pesos moleculares altos, una alta reproductibilidad en tiempo corto, con un menor consumo de solventes y sobre todo, teniendo una manipulación sencilla, proviniendo de una extracción cuyo método haya sido el biológico el cual es más recomendable por la ventaja de que su aporte energético sea menor en comparación con el químico, además de que ayuda al medio ambiente al evitar ser un contaminante.

Un plan para su aprovechamiento consistiría en identificar áreas que generan los exoesqueletos de los camarones provenientes de las industrias pesqueras y los restaurantes de comida marina y que sean recolectados y procesados para darles un aprovechamiento biotecnológico, de modo que realizándolo y llevándolo a escala industrial podrá levantar la economía, disminuir la contaminación que ocasionan y, sobre todo, que la quitina se tenga a una mejor accesibilidad. De modo que, si se aprovecha los desechos de crustáceos, las empresas que se dedican a la extracción de la quitina y sus derivados tendrían mayor accesibilidad a ella, evitando ser contaminantes del medio ambiente.

Referencias

Alabaraoye, E., Achilonu, M., & Hester, R. (2018). Biopolymer (Chitin) from various marine seashell wastes: isolation and characterization. *Journal of Polymers and the Environment*, 26 (6), 2207-2218.

<https://doi.org/10.1007/s10924-017-1118-y>

Aranaz, I., Acosta, N., Civera, C., Elorza, B., Mingo, J., Castro, C., ... & Heras Caballero, A. (2018). Cosmetics and cosmeceutical applications of chitin, chitosan and their derivatives. *Polymers*, 10(2), 213.

<https://doi.org/10.3390/polym10020213>

Arbia, W., Arbia, L., Adour, L., & Amrane, A. (2013). Pregled bioloških metoda ekstrakcije hitina iz oklopa rakova. *Food Technology and Biotechnology*, 51(1), 12-25.

<https://doi.org/10.1016/j.bej.2011.05.006>

Arias, J. P. (2018). Quitina: Compuesto natural y práctico. *Investigación Joven*, 5(1), 1-4.

<http://sedici.unip.edu.ar/handle/10915/756>

24

A Ismail, S., & A Emran, M. (2020). Direct microbial production of prebiotic and antioxidant chitin-oligosaccharides from shrimp byproducts. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 24(4), 181-195.

<https://doi.org/10.21608/EJABF.2020.98021>

Borić, M., Vicente, F. A., Jurković, D. L., Novak, U., & Likozar, B. (2020). Chitin isolation from crustacean waste using a hybrid demineralization/DBD plasma process. *Carbohydrate polymers*, 246, 116648.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116648>

Bradić, B., Novak, U., & Likozar, B. (2019). Crustacean shell bio-refining to chitin by natural deep eutectic solvents. *Green Processing and Synthesis*, 9(1), 13-25.

<https://doi.org/10.1515/gps-2020-0002>

Cabanillas-Bojórquez LA, Gutiérrez-Grijalva Ép & Basilio-Heredia J. (2020). Desechos de camarón: un cóctel de oportunidades para la industria. *Revista ciencia*. 71(4):

https://www.amc.edu.mx/revistaciencia/online/X1_71_4_1274_DesechosCamaron.pdf

Castro, R., Guerrero-Legarreta, I., & Bórquez, R. (2018). Chitin extraction from *Allopetrolisthes punctatus* crab using lactic fermentation. *Biotechnology Reports*, 20, e00287.

<https://doi.org/10.1016/j.btre.2018.e00287>

Casadidio, C., Peregrina, D. V., Gigliobianco, M. R., Deng, S., Censi, R., & Di Martino, P. (2019). Chitin and chitosans: Characteristics, eco-friendly processes, and applications in cosmetic science. *Marine drugs*, 17(6), 369.

<https://doi.org/10.3390/md17060369>

Chen, X., & Yan, N. (2020). Conversion of Chitin to Nitrogen-containing Chemicals. *Chemical catalysts for biomass upgrading*, 569-590.

<https://doi.org/10.1002/9783527814794.ch14>

4

Divya, K., & Jisha, M. S. (2018). Chitosan nanoparticles preparation and applications. *Environmental chemistry letters*, 16, 101-112.

<https://doi.org/10.1007/s10311-017-0670-y>

Doan, C. T., Tran, T. N., Nguyen, V. B., Nguyen, A. D., & Wang, S. L. (2018). Conversion of squid pens to chitosanases and proteases via *Paenibacillus* sp. TKU042. *Marine Drugs*, 16(3), 83.

<https://doi.org/10.3390/md16030083>

Dun, Y., Li, Y., Xu, J., Hu, Y., Zhang, C., Liang, Y., & Zhao, S. (2019). Simultaneous fermentation and hydrolysis to extract chitin from crayfish shell waste. *International journal of biological macromolecules*, 123, 420-426.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.08.139>

39

FAO (2010). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2010. Roma.

(<https://www.fao.org/3/l1820S/i18202.pdf>)

FAO (2014). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2014. Oportunidades y desafíos. Roma.

(<https://www.fao.org/3/i3720s/i3720s.pdf>)

FAO (2018). El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Roma.

(<https://www.fao.org/3/i9540es/i9540es.pdf>)

FAO (2020). El estado mundial de la pesca 2020. La sostenibilidad en acción. Roma. (<https://www.fao.org/3/ca9229es/ca9229es.pdf>)

Ghorbel-Bellaaj, O., Maalej, H., Nasri, M., & Jellouli, K. (2018). Fermented shrimp waste hydrolysates: promising source of functional molecules with antioxidant properties. *Journal of culinary science & technology*, 16(4), 357-377.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.08.034>

Gong, X., Tian, W., Bai, J., Qiao, K., Zhao, J., & Wang, L. (2019). Highly efficient deproteinization with an ammonifying bacteria *Lysinibacillus fusiformis* isolated from brewery spent diatomite. *Journal of bioscience and bioengineering*, 127(3), 326-332.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiosc.2018.08.004>

Gopi, S., Pius, A., Kargl, R., Kleinschek, K. S., & Thomas, S. (2019). Fabrication of cellulose acetate/chitosan blend films as efficient adsorbent for anionic water pollutants. *Polymer Bulletin*, 76, 1557-1571.

<https://doi.org/10.1039/C7NJ02392H>

Kaur, S., & Dhillon, G. S. (2015). Recent trends in biological extraction of chitin from marine shell wastes: a review. *Critical reviews in biotechnology*, 35(1), 44-61.

<https://doi.org/10.3109/07388551.2013.798256>

Kaya, M., Erdogan, S., Mol, A., & Baran, T. (2015). Comparison of chitin structures isolated from seven Orthoptera species. *International journal of biological macromolecules*, 72, 797-805.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.09.034>

Khrunyk, Y., Lach, S., Petrenko, I., & Ehrlich, H. (2020). Progress in modern marine biomaterials research. *Marine drugs*, 18(12), 589. <https://doi.org/10.3390/md18120589>

Larbi, F., García, A., Del Valle, L. J., Hamou, A., Puiggali, J., Belgacem, N., & Bras, J. (2018). Comparison of nanocrystals and nanofibers produced from shrimp shell α -chitin: From energy production to material cytotoxicity and Pickering emulsion

properties. *Carbohydrate Polymers*, 196, 385-397.

<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.094>

Liang, T. W., Huang, C. T., Dzung, N. A., & Wang, S. L. (2015). Squid pen chitin chitooligomers as food colorants absorbers. *Marine drugs*, 13(1), 681-696.

<https://doi.org/10.3390/md13010681>

Liu, Y., Xing, R., Yang, H., Liu, S., Qin, Y., Li, K., ... & Li, P. (2020). Chitin extraction from shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shells by successive two-step fermentation with *Lactobacillus rhamnoides* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *International journal of biological macromolecules*, 148, 424-433.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.124>

Mohan, K., Muralisankar, T., Jayakumar, R., & Rajeevgandhi, C. (2021). A study on structural comparisons of α -chitin extracted from marine crustacean shell waste. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 2, 100037.

<https://doi.org/10.1016/j.carpta.2021.100037>

Morganti, P., Morganti, G., & Morganti, A. (2011). Transforming nanostructured chitin from crustacean waste into beneficial health products: a must for our society. *Nanotechnology, Science and Applications*, 123-129.

<https://doi.org/10.2147/NSA.S22459>

Navarrete-Bolaños, J. L., González-Torres, I., Vargas-Bermúdez, V. H., & Jiménez-Islas, H. (2020). A biotechnological insight to recycle waste: analyzing the spontaneous fermentation of shrimp waste to design the hydrolysis process of chitin into n-acetylglucosamine. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 19(1), 263-274.

<https://doi.org/10.24275/rmiq/Bio544>

Roda, M. A. P., Gilman, E., Huntington, T., Kennelly, S. J., Suuronen, P., Chaloupka, M., & Medley, P. (2019). *A third assessment of global marine fisheries discards* (p. 78). Rome,

Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

<https://www.fao.org/3/CA2905EN/ca2905emn.pdf>

Artículos

Polo Galindo, I. M. (2016). Sostenibilidad: obtención de quitina a partir de sustancias de desecho. Tesis profesional. Universidad de Sevilla, Sevilla. Pp. 1-35.

Rech, A. S., Rech, J. C., Caprario, J., Tasca, F. A., Recio, M. Á. L., & Finotti, A. R. (2019). Use of shrimp shell for adsorption of metals present in surface runoff. *Water Science and Technology*, 79(12), 2221-2230.
<https://doi.org/10.2166/wst.2019.213>

Romero Serrano, A., & Pereira, J. (2020). Chitosan, a versatile biomaterial. State of the art from its obtaining to its multiple applications. *INGENIERÍA UC*, 118-135.
<https://redalyc.org/articulo.oa?id=70764230002>

Salazar-Leyva, J. A., Lizardi-Mendoza, J., Ramírez-Suarez, J. C., García-Sánchez, G., Ezquerro-Brauer, J. M., Valenzuela-Soto, E. M., ... & Pacheco-Aguilar, R. (2014). Utilización de materiales a base de quitina y quitosano en la inmovilización de proteasas: efectos en su estabilización y aplicaciones. *Revista mexicana de ingeniería química*, 13(1), 129-150.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382014000100011

Santos, V. P., Marques, N. S., Maia, P. C., Lima, M. A. B. D., Franco, L. D. O., & Campos-Takaki, G. M. D. (2020). Seafood waste as attractive source of chitin and chitosan production and their applications. *International journal of molecular sciences*, 21(12), 4290.
<https://doi.org/10.3390/ijms21124290>

Silva, S. S., Gomes, J. M., Vale, A. C., Lu, S., Reis, R. L., & Kundu, S. C. (2020). Green pathway for processing non-mulberry *Antheraea pernyi* silk fibroin/chitin-based sponges: Biophysical and biochemical characterization. *Frontiers in Materials*, 7, 135.
<https://doi.org/10.3390/agronomy3040757>

Tan, H. W., Lim, Z. Y. J., Muhamad, N. A., & Liew, F. F. (2022). Potential economic value of chitin and its derivatives as major biomaterials of seafood waste, with particular reference to southeast asia. *Journal of Renewable Materials*, 10(4), 909.
<https://doi.org/10.32604/jrm.2022.018183>

Thamilarasan, V., Sethuraman, V., Gopinath, K., Balalakshmi, C., Govindarajan, M., Mothana, R. A.,... & Benelli, G. (2018). Single step fabrication of chitosan nanocrystals using *Penaeus semisulcatus*: potential as new insecticides, antimicrobials and plant growth promoters. *Journal of Cluster Science*, 29, 375-384.
<https://doi.org/10.1007/s10876-018-1342-1>

Wang, S. L. (2012). Microbial reclamation of squid pen. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 1(2), 177-180.
<https://doi.org/10.1016/j.bcab.2012.01.002>

Solventes eutécticos profundos naturales: Aplicaciones en biotecnología y otros sectores industriales **Natural deep eutectic solvents: Applications in biotechnology and other industrial sectors.**

Juan Pablo Carreón-Hidalgo, María de Lourdes Ruiz-Peralta, Edith Corona-Jiménez*
*Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México, Facultad de Ingeniería Química,
18 Sur y Avenida San Claudio, 72570 Puebla, México*

*E-mail: edith.coronaji@correo.buap.mx

Resumen

El uso de solventes orgánicos en la industria tiene un papel esencial, pero sus efectos perjudiciales para el ambiente y la salud han generado preocupación. Esto ha llevado a buscar alternativas sostenibles y ecológicas, como los solventes eutécticos profundos naturales (NADES, por sus siglas en inglés). Éstos se preparan al mezclar aceptores y donadores de enlaces de hidrógeno, y destacan por su preparación simple y uso de metabolitos provenientes de plantas, animales y microorganismos. Actualmente, hay estudios teóricos que contribuyen al entendimiento de los NADES y se sabe que, gracias a su estructura supramolecular, éstos desempeñan funciones cruciales en sistemas biológicos y además pueden usarse como solventes sostenibles y amigables con el medio ambiente. Las aplicaciones de los NADES son amplias e incluyen extracción de compuestos funcionales, tecnología de alimentos, catálisis enzimática, síntesis de nanopartículas, biotecnología y biorremediación. A pesar de sus beneficios, los NADES enfrentan desafíos como una baja estabilidad térmica y electroquímica, así como la complejidad en su selección y formulación. El objetivo de este artículo de difusión es ofrecer un panorama general del estudio, aplicaciones y perspectivas del uso de NADES en sustitución de solventes orgánicos.

Palabras Claves: *Solventes eutécticos profundos naturales (NADES), solventes orgánicos, aplicaciones de los NADES, solventes amigables con el ambiente*

Abstract

The use of organic solvents in industry plays an essential role, but their detrimental effects on the environment and health have raised concerns. This has led to the search for sustainable and environmentally friendly alternatives, such as natural deep eutectic solvents (NADES). These are prepared by mixing hydrogen bond acceptors and donors and stand out for their simple preparation and use of metabolites from plants, animals, and microorganisms. Currently, several theoretical studies contribute to the understanding of NADES and it is known that, thanks to their supramolecular structure, they play crucial roles in biological systems and can also be used as sustainable and environmentally friendly solvents. The applications of NADES are broad and include functional compound extraction, food technology, enzymatic catalysis, nanoparticle synthesis, biotechnology, and bioremediation. Despite their benefits, NADES face challenges such as low thermal and electrochemical stability, as well as complexity in their selection and formulation. This dissemination article aims to provide an overview of the study, applications, and perspectives of the use of NADES in the substitution of organic solvents.

Key Words: *Natural deep eutectic solvents (NADES), organic solvents, applications of NADES, environmentally friendly solvents*

Introducción

Una gran cantidad de industrias han dependido del uso intensivo de solventes por cientos de años. Entre estas industrias se encuentra la química, farmacéutica, petroquímica, de la construcción, de ingeniería de yacimientos, de alimentos y bebidas, de tintes, de adhesivos y afines. El uso de solventes por estos sectores representa entre el 80 y 90% de la masa total en proceso y también entre el 80 y 85% de los residuos que generan. La mayoría de estos solventes son compuestos orgánicos volátiles con un alto grado de toxicidad y volatilidad y cuyo uso genera contaminación ambiental y daños a la salud (Prabhune & Dey, 2023). Algunos de los solventes orgánicos más comunes son la acetona, el etanol, el metanol, el tetrahidrofurano (THF), el cloroformo, el hexano y el benceno (Cseri et al., 2018). La demanda de solventes orgánicos ha aumentado en los últimos años. Según un informe de *Fortune Business Insights* el mercado global de solventes experimentó una disminución en 2020 debido al impacto negativo de la pandemia de COVID-19, pero se espera que el mercado crezca durante el período 2021-2028 y alcance los 68 millones de dólares (Fortune Business Insights, 2021). La preocupación que genera el uso de solventes orgánicos debido a sus efectos adversos ha llevado a buscar alternativas sustentables que estén en concordancia con los 12 principios de la química verde. Estos principios incluyen economía atómica (los procesos deben incorporar todos los materiales utilizados en el producto final), síntesis química menos peligrosa, el diseño y uso de solventes y sustancias químicas más seguras, el análisis en tiempo real para prevenir la contaminación, utilización de materias primas renovables, entre otros. La comunidad científica está en una búsqueda continua para desarrollar y emplear solventes alternativos más ecológicos y sustentables que incluyen líquidos expandidos con gas, polímeros líquidos, fluidos supercríticos, líquidos derivados de biomasa, líquidos iónicos y solventes eutécticos profundos (DES, por sus siglas en inglés) (Anastas & Eghbali, 2010; Prabhune & Dey, 2023). Los DES se consideran un tipo mejorado de líquidos iónicos y aunque ambos tipos de

solvente tienen propiedades físicas similares se les puede considerar como distintos tipos de sustancias debido a sus propiedades químicas diversas. Los DES han ganado mucha popularidad como solventes alternativos y sustentables, lo que se debe a que sus características físicas se pueden ajustar y a su baja toxicidad. El primer DES se formuló con cloruro de colina y urea, y actualmente es posible utilizar metabolitos secundarios obtenidos de fuentes vegetales y animales, tales como ácidos orgánicos, azúcares, polioles y aminoácidos. Cuando se formulan a partir de metabolitos provenientes de plantas y/o animales los DES se denominan solventes eutécticos profundos naturales (NADES, por sus siglas en inglés) (Dai et al., 2013; Koh et al., 2023). Actualmente, se ha probado la aplicación de NADES en la extracción de compuestos con valor agregado, en tecnología de alimentos, en síntesis de nanopartículas, en biotecnología y en biorremediación. El objetivo de este artículo de difusión es enfatizar dichas aplicaciones, así como ofrecer un panorama general de las características, ventajas y limitaciones de los NADES en comparación con el uso de solventes convencionales.

Características de los DES y NADES

Los DES se pueden clasificar en cuatro grupos (tipo I, II, III y IV). Los DES de tipo I se componen de una sal de amonio cuaternario y un haluro metálico o sal de imidazolio. Los DES de tipo II se formulan con una sal de amonio cuaternario y un haluro metálico hidratado, así como cloruro de colina. Los de tipo III están formados por un donador de enlaces de hidrógeno (HBD, por sus siglas en inglés) y cloruro de colina que actúa como aceptor de enlaces de hidrógeno (HBA, por sus siglas en inglés). Los de tipo IV se componen de un haluro metálico y urea (Koh et al., 2023). Los DES se caracterizan por tener un punto de fusión muy por debajo de los puntos de fusión de sus constituyentes en estado puro. En la Figura 1 se ilustra en específico el descenso en el punto de fusión de un DES de tipo III. Se puede observar que al mezclar el HBD y el HBA en una proporción molar específica el descenso en el punto de fusión es más pronunciado, lo que se define como punto eutéctico (Hansen et al., 2021).

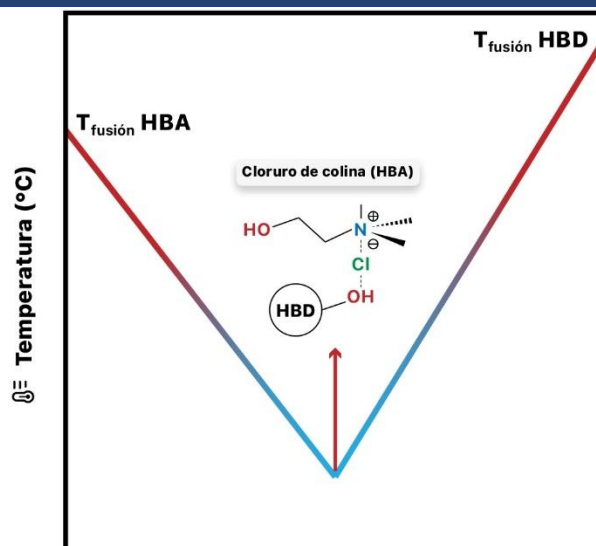


Figura 1. Representación de un diagrama de fases para mezclas eutécticas. Se ilustran los enlaces de hidrogeno entre el HBD y el HBA (cloruro de colina, uno de los HBA más reportados en estudios de DES).

Los NADES son un nuevo tipo de DES que se componen de metabolitos encontrados en microorganismos, animales y/o vegetales. Se sabe que los NADES forman una tercera fase líquida en los organismos, además del agua y los lípidos, la cual funciona como medio de transporte, de reacciones de biosíntesis y de almacenamiento. Asimismo, los NADES juegan un papel importante en la resistencia a temperaturas extremas, así como en la germinación de semillas (Choi et al., 2011). Los NADES pueden utilizarse en sustitución de solventes orgánicos en diversos procesos químicos y tienen diversas ventajas: sus componentes son baratos, de fácil acceso, sostenibles y de nula toxicidad, son fáciles de producir, biocompatibles, amigables con el medio ambiente, extraordinarios agentes solubilizantes y sus propiedades (viscosidad y densidad, por ejemplo) pueden ajustarse para volverlos muy específicos dependiendo de la operación en la que serán utilizados. Para su producción sólo se requiere de mezclar los componentes en una relación molar específica y aplicar calor moderado (Jesus et al., 2023; Płotka-Wasyłka et al., 2020).

Selección y formulación de NADES

Para la selección y/o diseño de los NADES se han propuesto varios enfoques como la aplicación de redes neuronales ("machine learning") y el modelo de cribado conductor para disolventes reales (COSMO-RS por sus siglas en inglés). En el caso de redes neuronales, éstas permiten ajustar modelos

predictivos de las propiedades del NADES en función de la temperatura y composición de este (Shahbaz et al., 2012). En contraste, COSMO-RS es una metodología de modelado a macro escala que no requiere de datos experimentales y hace posible obtener estimaciones de las propiedades de una mezcla líquida como solubilidad, coeficiente de partición y equilibrio líquido-líquido. Lo anterior hace a COSMO-RS una metodología adecuada para selecciones preliminares de NADES (Kovács et al., 2020). Actualmente, también se han probado otros enfoques computacionales que pueden requerir de datos experimentales y/o de diversos modelos teóricos (Chen et al., 2022).

Para la formulación de los NADES se necesita un HBD y un HBA. El cloruro de colina es el HBA más reportado en investigación, pero también pueden utilizarse otros compuestos como la betaína y sales de aminoácidos como prolina, glicina y alanina (Suthar et al., 2023). Como HBD se han reportado ácidos orgánicos como el ácido cítrico, el ácido malónico y el ácido málico, así como alcoholes y polioles como el glicerol, el sorbitol y el xilitol. Azúcares como la glucosa, la xilosa y la fructosa también se pueden utilizar como HBD en la formulación de este tipo de solventes, en cuyo caso suelen denominarse como NADES basados en azúcar (Koh et al., 2023).

Estructura de los NADES

Mediante resonancia magnética nuclear y metodologías computacionales puede

obtenerse evidencia teórica y experimental que confirma las interacciones intermoleculares en los NADES. Por ejemplo, en NADES formados por ácido láctico-glucosa, ácido cítrico-fructosa y ácido cítrico-glucosa se confirmaron interacciones entre ambas moléculas mediante puentes de hidrógeno, incluso al diluir con agua. En el caso de ácido láctico-glucosa, al añadir quercetina al medio se registraron interacciones lo suficientemente fuertes para alterar la supraestructura del NADES. Cabe resaltar que la quercetina es un compuesto fenólico con propiedades funcionales (Pisano et al., 2018). A los métodos mencionados anteriormente pueden sumarse mediciones de viscosidad, conductividad y polaridad, lo que permite caracterizar al NADES de interés de manera completa y a establecer posibles relaciones entre las variables medidas. En el caso de NADES formados con cloruro de colina y ácidos carboxílicos con distintas longitudes de cadena de carbono se reportó que al aumentar el tamaño de dicha cadena se aumentó la viscosidad y se redujeron la conductividad y la polaridad (Man Zhang et al., 2022).

La adición de agua puede tener un papel fundamental al formular NADES, ya sea que se agregue durante la preparación, en cuyo caso forma parte de la estructura supramolecular, o después de la preparación con el objetivo principal de reducir la viscosidad. Además de la viscosidad, la

adición de agua puede tener un efecto considerable en la conductividad, densidad, índice de refracción y estabilidad térmica, como lo reportado en un NADES formulado con ácido cítrico, fructosa y agua (Lorenzetti et al., 2022).

Aplicaciones de los NADES

La preparación de NADES se considera un proceso simple y escalable, lo que haría posible utilizar estos solventes en el procesamiento a escala industrial para la recuperación de productos con valor agregado provenientes de diversas fuentes. Por ejemplo, los NADES pueden utilizarse para obtener biomasa agrícola, compuestos funcionales de bajo peso molecular y residuos lignocelulósicos, que posteriormente podrían ser utilizados para producir fibras dietéticas, productos comestibles, recubrimientos, biopolímeros, envases de alimentos, suplementos alimenticios y extractos funcionales (Suthar et al., 2023).

Extracción de compuestos funcionales de vegetales

Los NADES pueden utilizarse como medio de extracción para la obtención de compuestos funcionales de bajo y alto peso molecular provenientes de distintas fuentes (Tabla 1). En particular, los NADES basados en azúcares han sido utilizados para la extracción de compuestos fenólicos, flavonoides, cafeína y vainillina (Koh et al., 2023).

Tabla 1. Extracción de compuestos de origen vegetal mediante la utilización de NADES como solventes (Koh et al., 2023; Ling & Hadinoto, 2022; Meenu et al., 2023; Socas-Rodríguez et al., 2021).

Compuesto de interés	Matrices	Tipo de extracción	Compuestos para la formulación de NADES
Antocianinas	Desechos de uva y otras bayas Distintas partes de flores Zanahorias púrpuras	Agitación EAU y EAM	Cloruro de colina, ácido cítrico, glucosa, maltosa, ácido oxálico y agua
Flavonoides, compuestos fenólicos, vainillina y cafeína	Hojas y tallos de distintas especies Granos de café Piel de uva	Agitación EAU y EAM	Cloruro de colina, betaína, glucosa, ácido málico, fructosa, prolina, urea y agua
Compuestos fenólicos, alcaloides, ácido rosmarínico, vitaminas y minerales	Hojas de <i>Ginkgo biloba</i> , romero y algunas especies de bayas	Agitación EAU y EAM	Cloruro de colina, ácido cítrico, prolina, glicerol, ácido láctico, ácido oxálico, ácido cítrico, glucosa y agua
Proteínas	Avena, soya, granos de desecho de la producción de cerveza y albúmina sérica bovina	Extracción sólido-líquido y extracción líquido-líquido	Cloruro de colina, glicerol, sal de carboxilato y urea
Polisacáridos	Frutos, caparazón de langosta y algas pardas	Extracción sólido líquido	Cloruro de colina, ácido cítrico, ácido malónico y glicerol
Carotenoides y otros lípidos	Calabaza, albaricoque y microalgas	EAM Extracción sólido-líquido	Cloruro de colina, ácido tartárico, timol, ácido oleico

EAU: Extracción asistida por ultrasonido; EAM: Extracción asistida por microondas.

Aplicaciones en alimentos

Los estudios en alimentos que involucran la utilización de NADES se han enfocado principalmente en la obtención de compuestos funcionales de bajo y alto peso molecular, la cuantificación de metales pesados y toxinas, así como en la producción de recubrimientos para el envasado, para lo cual se aprovecha que los NADES pueden funcionar como plastificantes al solubilizar polisacáridos como el quitosano. En adición, los NADES también pueden ser utilizados como medio no acuoso para catálisis enzimática (Suthar et al., 2023). Si los NADES se formulan con compuestos con denominación GRAS (generalmente reconocido como seguro, por su traducción al español), los extractos obtenidos con la utilización de estos solventes tienen el potencial de ser aplicados directamente en alimentos, sin necesidad de etapas adicionales de purificación, y conferirles propiedades funcionales. Esto ya ha sido probado en la elaboración de bebidas fortificadas con extractos ricos en polifenoles obtenidos de granos de cocoa utilizando NADES como solventes (Panić et al., 2020). Este tipo de extractos "listos para usar" y ricos en polifenoles también pueden obtenerse a partir de otras fuentes vegetales como el bagazo de uva obtenido de la producción de vino y residuos de aceituna derivados de la producción de aceite (Panić et al., 2019).

Al estar formulados con compuestos de origen vegetal y aprovechando sus propiedades, los NADES se han probado recientemente como agentes anticongelantes en pechugas de pollo, lo que contribuye a ampliar las posibles aplicaciones de estos solventes en el sector alimentario (Tian et al., 2022).

Síntesis de nanopartículas inorgánicas

Los NADES pueden ser utilizados como medio de reacción para la síntesis de nanopartículas inorgánicas sin necesidad de aumentar la presión y temperatura durante la reacción. Además, pueden actuar como reactantes y hacen posible controlar el tamaño y estructura de la nanopartícula, permitiendo obtener productos con altos grados de pureza. Al poder formularse con distintos componentes, los NADES ofrecen un amplio rango de valores de pH, de viscosidad, de densidad, de índice de refracción, de potencial redox y de tensión superficial, lo que en suma permite optimizar el proceso para obtener

nanopartículas con formas y tamaños bien definidos a partir de oro, plata, cobre, níquel y platino, así como nanopartículas de óxidos metálicos (zinc, manganeso, cobalto, magnesio, entre otros) y nanopartículas de distintas sales. Para la formulación de los NADES, en este tipo de estudios se han utilizado principalmente cloruro de colina como HBA y urea, ácidos orgánicos, glicerol y etilenglicol como HBD (Długosz, 2023).

Cabe resaltar que las nanopartículas inorgánicas tienen varias aplicaciones industriales, tanto ya establecidas como potenciales, tales como aditivos químicamente inertes para la elaboración de pigmentos y cerámica, partículas químicamente activas (catalizadores, biomateriales y agentes antimicrobianos), componentes para la fabricación de celdas solares y filtros para la protección contra la radiación ultravioleta (Stark et al., 2015). Además, tienen aplicaciones clínicas como portadoras de fármacos, agentes de contraste para diagnósticos por imagen y tratamientos contra distintos tipos de cáncer (mama y cerebro, principalmente) (Aghebati-Maleki et al., 2020).

Aplicaciones en biotecnología

La biotecnología es un campo de investigación donde se utilizan sistemas biológicos y organismos vivos para desarrollar nuevos productos. Dentro de este campo los NADES se han utilizado principalmente como medios para solubilizar compuestos activos de naturaleza hidrofóbica, particularmente en aplicaciones farmacéuticas. Sin embargo, recientemente se ha reportado la aplicación de estos solventes como crio preservadores en distintas líneas celulares y como estabilizadores de proteínas, enzimas y ADN. Cuando los NADES se utilizan como crio preservadores, éstos evitan la formación de cristales de agua y por tanto contribuyen a mantener la integridad de las membranas celulares a temperaturas por debajo del punto de congelación del agua. En cuanto a la estabilización de proteínas y ADN, se ha sugerido que los NADES son capaces de reemplazar moléculas de agua alrededor de las macromoléculas, lo que contribuye a disminuir reacciones de degradación química, como la hidrólisis, y física, agregación por altas temperaturas (Jesus et al., 2023).

Cabe resaltar que los NADES también han sido utilizados como medio para llevar a cabo reacciones enzimáticas, para la extracción de compuestos con actividad fisiológica provenientes de distintas matrices, para el pretratamiento de biomasa lignocelulósica y como plastificadores para la obtención de bioplásticos a partir de polisacáridos como el almidón, la celulosa, el quitosano y la pectina, así como de proteínas como la queratina, el colágeno, la elastina, entre otras (Morozova et al., 2023).

Como medio para llevar a cabo reacciones enzimáticas, los NADES pueden utilizarse en reacciones tipo redox, de hidrólisis, de esterificación y de transesterificación, tanto con enzimas aisladas como con células completas. Esto puede ofrecer mayores rendimientos y menores tiempos de reacción, dependiendo de las propiedades y porcentaje del NADES, en comparación con las mismas reacciones enzimáticas llevadas a cabo en agua y soluciones amortiguadoras (Arnodo et al., 2023).

Para el pretratamiento de biomasa lignocelulósica, los NADES se utilizan como medio de extracción para la separación de lignina y celulosa. La celulosa separada se somete posteriormente a hidrólisis enzimática para producir mono y oligosacáridos, mientras

que la lignina se caracteriza por su gran pureza y bajo peso molecular, lo que facilita su uso como materia prima para la obtención de productos de valor agregado tales como bioplásticos (Morozova et al., 2023).

Producción de biocombustibles

La biomasa lignocelulósica proveniente de desechos o de distintas fuentes vegetales es una materia prima con un gran potencial para producción de biocombustibles como el biodiesel y el gas natural. Los NADES pueden tener un papel importante en las distintas etapas de la producción de estos biocombustibles al utilizarse como solventes, cosolventes o medios de reacción enzimática. El uso de NADES también se ha reportado en el preprocesamiento de biomasa para obtener celulosa y lignina. Posteriormente, productos como la celulosa son sometidos a procesos de hidrólisis enzimática y fermentación para producir bio-butanol, bioetanol y/o biogás (Figura 2). En adición, la utilización de NADES para el preprocesamiento de biomasa puede reducir la producción de metabolitos secundarios no deseados durante la fermentación, así como reducir el consumo de energía en comparación con métodos convencionales de preprocesamiento (Amesho et al., 2023).

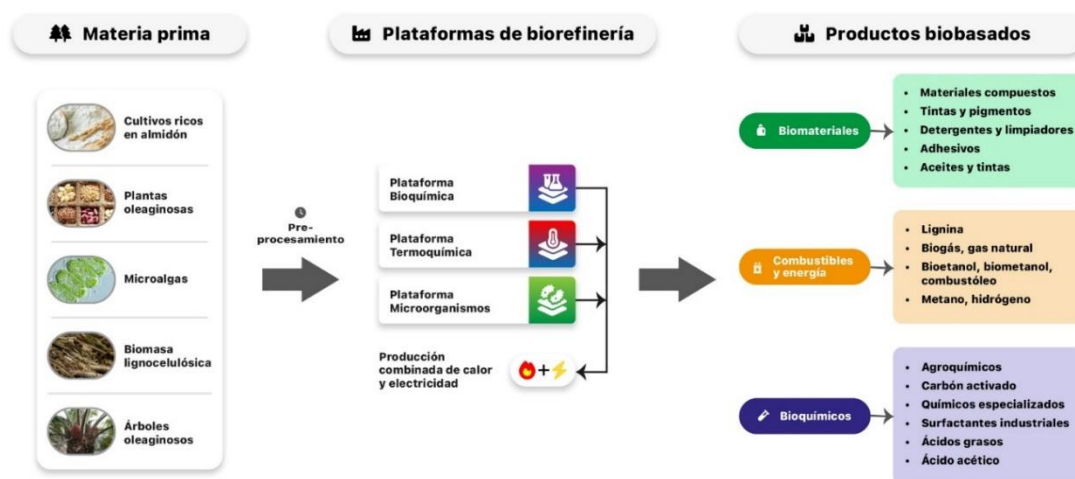


Figura 2. Esquema general de una biorrefinería. Los NADES pueden utilizarse en el procesamiento de la materia prima y posteriormente en cada una de las plataformas de biorrefinería (modificado de Gavrilescu, 2005).

En cuanto a la producción de biodiesel a partir de aceites o lípidos de origen vegetal o de microalgas, los NADES pueden utilizarse como catalizadores en reacciones transesterificación y posteriormente como

solventes para la purificación y separación de impurezas (Najaf-Abadi et al., 2022). Resulta importante considerar las limitaciones o desventajas de la aplicación de NADES para el preprocesamiento de biomasa. En particular

su baja estabilidad térmica y electroquímica, así como su alta higroscopicidad. Lo anterior es relevante ya que el preprocesamiento requiere mantener temperaturas de entre 60 y 130 °C por tiempos prolongados y la higroscopicidad de los NADES puede tener un impacto negativo sobre sus propiedades. Estas limitaciones pueden evitarse con el diseño y formulación de NADES para tareas específicas. Por ejemplo, actualmente se ha probado el uso de DES y NADES hidrofóbicos, con lo que se supera el problema de higroscopicidad (Amesho et al., 2023).

Tratamiento de suelos y biorremediación

La remediación de suelos se lleva a cabo mediante distintos métodos, principalmente procesos físicos, químicos, la combinación de ambos y por biorremediación. Entre los métodos químicos, el de lavado de suelos es el más implementado debido a su alta eficiencia y tiempos reducidos de proceso. Los agentes de lavado de suelo actúan como disolventes de metales pesados y posteriormente reaccionan con los mismos para formar compuestos insolubles en agua, lo que facilita su precipitación y separación. Los agentes de lavado comunes son soluciones acuosas de ácidos, bases, sales inorgánicas, quelantes y surfactantes. Los NADES pueden sustituir a estos agentes, en especial los NADES formulados con ácidos orgánicos que actúan como quelantes y facilitan la remoción de metales pesados como el plomo. Lo anterior permite obtener hasta un 99% de remoción al establecer las condiciones óptimas del proceso. Cabe resaltar que este tipo de estudios son escasos, lo que representa un área de oportunidad para estudios futuros que utilicen NADES como agentes de lavado (Lai et al., 2023).

Otro aspecto poco o nada explorado es el de la biorremediación en combinación con NADES. La biorremediación involucra el uso de microorganismos (bacterias, hongos y algas) y sus procesos metabólicos para reducir o remover los contaminantes de áreas afectadas (Ojha et al., 2023). Como se mencionó en secciones anteriores, los NADES pueden servir como medios de reacción de enzimas aisladas y células completas, lo que puede aumentar los rendimientos de reacción y reducir la generación de metabolitos secundarios

indeseables. Esto podría aprovecharse para mejorar los procesos de biorremediación, representando otra área de oportunidad para más estudios.

NADES hidrofóbicos

La mayoría de los DES y NADES reportados en distintos estudios son miscibles en medios acuosos, así como en solventes orgánicos hidrofílicos, por tanto, sus aplicaciones se limitan a muestras acuosas o hidrofílicas. Sin embargo, desde 2015 se ha reportado el uso de DES hidrofóbicos en tecnologías de detección para seguridad alimentaria y protección del medio ambiente, en procesos de separación y extracción, en biocatálisis y aprovechamiento energético, en la modificación de materiales y en la industria farmacéutica. Los DES hidrofóbicos más reportados se formulan principalmente con ácidos grasos de cadena larga (ácidos caprílico, cáprico y láurico) como HBA y mentol o sales de amonio como HBD (Cao & Su, 2021). En particular los DES hidrofóbicos preparados a partir de mentol y ácidos grasos se podrían considerar como NADES hidrofóbicos.

De forma complementaria, los NADES hidrofóbicos pueden utilizarse junto a NADES hidrofílicos para asegurar la extracción completa de compuestos funcionales, como recientemente se publicó en la extracción en cáscaras de naranja. En este estudio se utilizaron NADES a base de ácido láctico:glucosa (hidrofílico) y ácido láurico:ácido octanoico (hidrofóbico) para extraer compuestos fenólicos y carotenoides de la cáscara (Viñas-Ospino et al., 2023).

De igual modo, también se ha reportado el escalamiento de un proceso híbrido de extracción-destilación utilizando un NADES hidrofóbico compuesto por mentol (HBA) y ácido palmítico (HBD). Lo anterior se utilizó para la extracción de alcoholes (etanol, 1-propanol y 1-butanol) de una fase acuosa (Verma & Banerjee, 2019). Este tipo de estudios es importante ya que contribuyen a fomentar las posibles aplicaciones industriales de los NADES.

Limitaciones y perspectivas de la aplicación de NADES

La mayor parte de las publicaciones relacionadas con la investigación y aplicación de NADES hacen hincapié en las numerosas

ventajas y bondades de este tipo de solventes. Sin embargo, al aplicar una nueva tecnología derivada de la investigación científica es importante tomar en cuenta sus posibles limitaciones y/o desventajas. Más que ir en detrimento, lo anterior contribuirá a mejorar y ampliar el conocimiento y sus posibles aplicaciones.

Como se mencionó en secciones anteriores, una de las desventajas de los NADES es su baja estabilidad térmica y electroquímica, así como su alta higroscopicidad. Lo anterior puede limitar sus aplicaciones sobre todo en el procesamiento de biomasa para la producción de biocombustibles, ya que en este proceso suelen requerirse temperaturas de entre 60 – 130 °C por tiempos prolongados. Para afrontar esta limitación se puede aprovechar el hecho de que las propiedades de los NADES pueden modificarse al variar el tipo y proporción de sus componentes.

También sería relevante incluir estudios de estabilidad térmica de estos solventes bajo distintas temperaturas, lo que ha sido abordado escasamente (Chen et al., 2018).

Otro aspecto que puede considerarse como una desventaja de los NADES es precisamente el hecho de que sus propiedades son “personalizables”. Esto se debe al inmenso número de combinaciones posibles de HBA y HBD, lo que hace difícil y tardado determinar las mezclas óptimas para una aplicación dada si se sigue un enfoque de ensayo y error. Lo anterior limita las supuestas propiedades ajustables de los NADES y su aplicación práctica (Hansen et al., 2021).

Como se mencionó anteriormente, para superar esta limitación existen enfoques computacionales como el *machine learning* y el COSMO-RS, que pueden ayudar en el diseño y selección racional de componentes para la elaboración de NADES (Kovács et al., 2020).

A lo expuesto anteriormente también se suma la escasez de estudios que contribuyan al entendimiento teórico y ofrezcan evidencia experimental acerca de los mecanismos microscópicos que rigen las relaciones estructura-propiedades de los NADES, así como del equilibrio termodinámico entre fases durante procesos de extracción. Más estudios que aborden lo anterior contribuirán a reducir los tiempos de diseño y selección, y posibilitarán el modelado general de ingeniería química, lo que a su vez permitirá la aplicación a gran escala de este tipo de solventes (Castillo-Santos et al., 2016; Hansen et al., 2021).

Finalmente, el papel de los NADES como solventes no tóxicos y biodegradables es resaltado en muchos estudios y revisiones debido a que se formulan con compuestos biodegradables provenientes de plantas, microorganismos y animales. No obstante, actualmente hay una falta de estudios toxicológicos y ambientales que confirmen dicha premisa. Hay varios puntos a resaltar: 1) el efecto sinérgico entre los componentes utilizados para la formulación de estos solventes los haría menos amigables con el ambiente de lo que se pensaba inicialmente; 2) debido a su elevada viscosidad, algunos tipos de ensayos para determinar la toxicidad/biodegradabilidad no son aplicables para la evaluación de NADES; 3) se necesitan más estudios de toxicidad/biodegradabilidad que utilicen una amplia gama de tipos de microorganismos y/o líneas celulares para cada tipo de NADES evaluado. Al abordar los puntos señalados se podría afirmar que un NADES en particular no es tóxico o es amigable con el ambiente (Martínez et al., 2022).

En la figura 3 se resumen de manera visual los puntos relevantes en el estudio y aplicación de los NADES.

Artículos

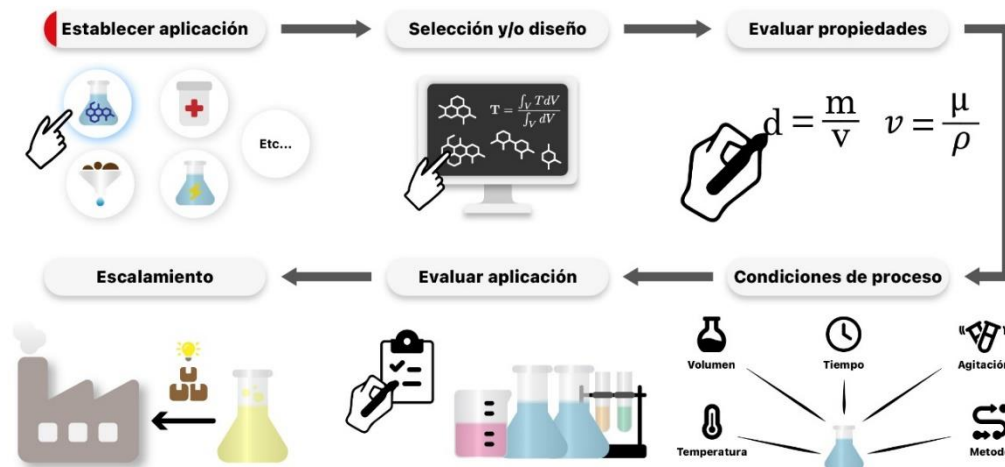


Figura 3. Etapas para la evaluación y aplicación de NADES. Dependiendo de los objetivos de la investigación las etapas o pasos a seguir pueden variar, intercambiarse o eliminarse.

Agradecimientos

Los autores agradecen la beca de posdoctorado otorgada por el Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) al Dr. Juan Pablo Carreón-Hidalgo (CVU 689991) y el apoyo de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). Lo anterior hizo posible la realización de este artículo de divulgación.

Referencias

Aghebati-Maleki, A., Dolati, S., Ahmadi, M., Baghbanzhadeh, A., Asadi, M., Fotouhi, A., Yousefi, M., & Aghebati-Maleki, L. (2020). Nanoparticles and cancer therapy: Perspectives for application of nanoparticles in the treatment of cancers. *Journal of Cellular Physiology*, 235(3), 1962-1972. <https://doi.org/10.1002/jcp.29126>

Amesho, K. T. T., Lin, Y.-C., Mohan, S. V., Halder, S., Ponnusamy, V. K., & Jhang, S.-R. (2023). Deep eutectic solvents in the transformation of biomass into biofuels and fine chemicals: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 21(1), 183-230. <https://doi.org/10.1007/s10311-022-01521-x>

Anastas, P., & Eghbali, N. (2010). Green chemistry: Principles and practice. *Chem. Soc. Rev.*, 39(1), 301-312. <https://doi.org/10.1039/B918763B>

Arnodo, D., Maffei, E., Marra, F., Nejrotti, S., & Prandi, C. (2023). Combination of enzymes and deep eutectic solvents as powerful toolbox

for organic synthesis. *Molecules*, 28(2), 516. <https://doi.org/10.3390/molecules28020516>

Cao, J., & Su, E. (2021). Hydrophobic deep eutectic solvents: The new generation of green solvents for diversified and colorful applications in green chemistry. *Journal of Cleaner Production*, 314, 127965. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127965>

Castillo-Santos, K., Aguirre-Alonso, R. O., Rodríguez-Jimenes, G. C., Robles-Olvera, V. J., Salgado-Cervantes, M. A., & García-Alvarado, M. A. (2016). An optimization based algorithm for solving design problems of counter-current multistage batch solid-liquid extractors for complex systems: Application to vanilla extract. *Computers & Chemical Engineering*, 89, 53-61. <https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2016.03.004>

Chen, J., Zhu, F., Qin, H., Song, Z., Qi, Z., & Sundmacher, K. (2022). Rational eutectic solvent design by linking regular solution theory with QSAR modelling. *Chemical Engineering Science*, 262, 118042. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2022.118042>

Chen, W., Xue, Z., Wang, J., Jiang, J., Zhao, X., & Mu, T. (2018). Investigation on the thermal stability of deep eutectic solvents. *Acta Physico-Chimica Sinica*, 34(8), 904-911. <https://doi.org/10.3866/PKU.WHXB20171228>

1

- Choi, Y. H., Van Spronsen, J., Dai, Y., Verberne, M., Hollmann, F., Arends, I. W. C. E., Witkamp, G.-J., & Verpoorte, R. (2011). Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology? *Plant Physiology*, 156(4), 1701-1705. <https://doi.org/10.1104/pp.111.178426>
- Cseri, L., Razali, M., Pogany, P., & Szekely, G. (2018). Organic solvents in sustainable synthesis and engineering. *En Green Chemistry* (pp. 513-553). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809270-5.00020-0>
- Dai, Y., Van Spronsen, J., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2013). Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*, 766, 61-68. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.12.019>
- Długosz, O. (2023). Natural deep eutectic solvents in the synthesis of inorganic nanoparticles. *Materials*, 16(2), 627. <https://doi.org/10.3390/ma16020627>
- Fortune Business Insights. (2021). Solvents Market Size, Share & COVID-19 Impact Analysis, By Product Type (Alcohols, Ketones, Esters, and Others), Application (Paints & Coatings, Printing Inks, Industrial Cleaning, Adhesives, and Others), and Regional Forecast, 2021-2028. Fortune Business Insights. <https://www.fortunebusinessinsights.com/industrial-solvents-market-102135>
- Gavrilescu, M. (2005). Biorefinery systems – An overview. *En Biorefineries-Industrial Processes and Products* (1.^a ed., pp. 1-40). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9783527619849.ch1>
- Hansen, B. B., Spittle, S., Chen, B., Poe, D., Zhang, Y., Klein, J. M., Horton, A., Adhikari, L., Zelovich, T., Doherty, B. W., Gurkan, B., Maginn, E. J., Ragauskas, A., Dadmun, M., Zawodzinski, T. A., Baker, G. A., Tuckerman, M. E., Savinell, R. F., & Sangoro, J. R. (2021). Deep eutectic solvents: A review of fundamentals and applications. *Chemical Reviews*, 121(3), 1232-1285. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00385>
- Jesus, A. R., Paiva, A., & Duarte, A. R. C. (2023). Current developments and future perspectives on biotechnology applications of natural deep eutectic systems. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 39, 100731. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2022.100731>
- Koh, Q. Q., Kua, Y. L., Gan, S., Tan, K. W., Lee, T. Z. E., Cheng, W. K., & Lau, H. L. N. (2023). Sugar-based natural deep eutectic solvent (NADES): Physicochemical properties, antimicrobial activity, toxicity, biodegradability and potential use as green extraction media for phytonutrients. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 35, 101218. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101218>
- Kovács, A., Neyts, E. C., Cornet, I., Wijnants, M., & Billen, P. (2020). Modeling the physicochemical properties of natural deep eutectic solvents. *ChemSusChem*, 13(15), 3789-3804. <https://doi.org/10.1002/cssc.202000286>
- Lai, Z. Y., Yiin, C. L., Lock, S. S. M., Chin, B. L. F., Zauzi, N. S. A., & Sar-ee, S. (2023). A review on natural based deep eutectic solvents (NADESs): Fundamentals and potential applications in removing heavy metals from soil. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-26288-8>
- Ling, J. K. U., & Hadinoto, K. (2022). Deep eutectic solvent as green solvent in extraction of biological macromolecules: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(6), 3381. <https://doi.org/10.3390/ijms23063381>
- Lorenzetti, A. S., Lo Fiego, M. J. L., Silva, M. F., Domini, C., & Gomez, F. J. V. (2022). Water behavior study for tailoring fructose-citric acid based natural deep eutectic solvent properties towards antibiotics solubilization. *Journal of Molecular Liquids*, 363, 119917-119917. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.119917>
- Man Zhang, Man Zhang, Xiaomeng Zhao, Xiaoyan Zhao, Siyang Tang, Siyang Tang, Kejing Wu, Kejing Wu, Binshen Wang, Binshen Wang, Yingying Liu, Yingying Liu, Yingming Zhu, Yingming Zhu, Lu, H., Houfang Lu, Bin Liang, & Bin Liang. (2022). Structure–

properties relationships of deep eutectic solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: Experimental and computational study. *Journal of Molecular Structure*, 134283-134283. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134283>

Martínez, G. M., Townley, G. G., & Martínez-Espinosa, R. M. (2022). Controversy on the toxic nature of deep eutectic solvents and their potential contribution to environmental pollution. *Heliyon*, 8(12), e12567. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12567>

Meenu, M., Bansal, V., Rana, S., Sharma, N., Kumar, V., Arora, V., & Garg, M. (2023). Deep eutectic solvents (DESs) and natural deep eutectic solvents (NADESs): Designer solvents for green extraction of anthocyanin. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 34, 101168. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2023.101168>

Morozova, O. V., Vasil'eva, I. S., Shumakovich, G. P., Zaitseva, E. A., & Yaropolov, A. I. (2023). Deep eutectic solvents for biotechnology applications. *Biochemistry (Moscow)*, 88(S1), S150-S175. <https://doi.org/10.1134/S0006297923140092>

Najaf-Abadi, M. K., Ghobadian, B., & Dehghani-Soufi, M. (2022). A review on application of deep eutectic solvents as green catalysts and co-solvents in biodiesel production and purification processes. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02644-5>

Ojha, A., Jaiswal, S., Thakur, P., & Mishra, S. K. (2023). Bioremediation techniques for heavy metal and metalloids removal from polluted lands: A review. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 20(9), 10591-10612. <https://doi.org/10.1007/s13762-022-04502-3>

Panić, M., Radić Stojković, M., Kraljić, K., Škevin, D., Radojčić Redovniković, I., Gaurina Srček, V., & Radošević, K. (2019). Ready-to-use green polyphenolic extracts from food by-products. *Food Chemistry*, 283, 628-636. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.061>

Panić, M., Saša, D., Giancarlo, C., Verpoorte, R., Hruškar, M., Radojčić Redovniković, I., &

Radošević, K. (2020). Biological activity and sensory evaluation of cocoa by-products NADES extracts used in food fortification. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 66, 102514. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102514>

Pisano, P. L., Espino, M., Fernández, M. D. L. Á., Silva, M. F., & Olivieri, A. C. (2018). Structural analysis of natural deep eutectic solvents. Theoretical and experimental study. *Microchemical Journal*, 143, 252-258. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.08.016>

Plotka-Wasyłka, J., De La Guardia, M., Andruch, V., & Vilková, M. (2020). Deep eutectic solvents vs ionic liquids: Similarities and differences. *Microchemical Journal*, 159, 105539. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105539>

Prabhune, A., & Dey, R. (2023). Green and sustainable solvents of the future: Deep eutectic solvents. *Journal of Molecular Liquids*, 379, 121676. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.121676>

Shahbaz, K., Baroutian, S., Mjalli, F. S., Hashim, M. A., & AlNashef, I. M. (2012). Densities of ammonium and phosphonium based deep eutectic solvents: Prediction using artificial intelligence and group contribution techniques. *Thermochimica Acta*, 527, 59-66. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2011.10.010>

Socas-Rodríguez, B., Torres-Cornejo, M. V., Álvarez-Rivera, G., & Mendiola, J. A. (2021). Deep eutectic solvents for the extraction of bioactive compounds from natural sources and agricultural by-products. *Applied Sciences*, 11(11), 4897. <https://doi.org/10.3390/app11114897>

Stark, W. J., Stoessel, P. R., Wohlleben, W., & Hafner, A. (2015). Industrial applications of nanoparticles. *Chemical Society Reviews*, 44(16), 5793-5805. <https://doi.org/10.1039/C4CS00362D>

Suthar, P., Kaushal, M., Vaidya, D., Thakur, M., Chauhan, P., Angmo, D., Kashyap, S., & Negi, N. (2023). Deep eutectic solvents (DES): An update on the applications in food sectors. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14, 100678. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100678>

Tian, Y., Sun, D.-W., & Zhu, Z. (2022). Development of natural deep eutectic solvents (NADESs) as anti-freezing agents for the frozen food industry: Water-tailoring effects, anti-freezing mechanisms and applications. *Food Chemistry*, 371, 131150.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131150>

Verma, R., & Banerjee, T. (2019). Palmitic-acid-based hydrophobic deep eutectic solvents for the extraction of lower alcohols from aqueous media: Liquid–liquid equilibria measurements, validation and process economics. *Global Challenges*, 3(11), 1900024.
<https://doi.org/10.1002/gch2.201900024>

Viñas-Ospino, A., Panić, M., Bagović, M., Radošević, K., Esteve, M. J., & Radojčić Redovniković, I. (2023). Green approach to extract bioactive compounds from orange peel employing hydrophilic and hydrophobic deep eutectic solvents. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 31, 100942.
<https://doi.org/10.1016/j.scp.2022.100942>

Análisis cinético de la producción de biohidrógeno usando vermicompost como inóculo y diferentes concentraciones de sustrato

María J. Pascualone

*Centro de Investigación y Transferencia en Ingeniería Química Ambiental (CIQA),
Facultad Regional Córdoba, Universidad Tecnológica Nacional, Córdoba, Argentina.
mariapascualone@gmail.com*

Resumen

Ante los desafíos actuales de descarbonización del sector energético, el hidrógeno ha demostrado ser un portador de energía prometedor. Su producción biológica resulta ser sostenible y respetuosa con el ambiente. Este trabajo tuvo como objetivo determinar los parámetros cinéticos a fin de establecer la relación inicial de concentración sustrato/inóculo (S/X) óptima para la producción de biohidrógeno, utilizando glucosa como fuente de carbono y un consorcio proveniente de vermicompost como inóculo. Los experimentos se llevaron a cabo mediante fermentaciones *batch*, en botellas serológicas de 120 mL, con diferentes concentraciones iniciales de sustrato (entre 5 y 50 g/L) a 35 °C y pH inicial de 5.5. El contenido de hidrógeno en el biogás (480 mL/L; 37%) y la velocidad de producción específica de hidrógeno (113.9 mL/g_{SV}/d) alcanzaron los valores más altos, cuando el sistema de reacción se alimentó con 15 g/L de glucosa, correspondiente a una relación S/X de 6 g_{glucosa}/g_{SV}. Asimismo, bajo dicha condición de cultivo, el tiempo de la fase lag (45 h) fue el más corto, y se obtuvo una alta eficiencia de degradación del sustrato (87%).

Palabras claves: Biohidrógeno, Fermentación, Parámetros cinéticos, Glucosa, Vermicompost.

Abstract

Given the current challenges of decarbonizing the energy sector, hydrogen has proven to be a promising energy carrier. Its biological production is sustainable and environmentally friendly. This study aimed to determine the kinetic parameters to establish the optimal initial substrate-to-inoculum concentration ratio (S/X) for biohydrogen production, using glucose as a carbon source and a consortium derived from vermicompost as inoculum. The experiments were conducted through batch fermentations in 120 mL serum bottles, with different initial substrate concentrations (ranging from 5 to 50 g/L) at 35°C and an initial pH of 5.5. The hydrogen content in the biogas (480 mL/L; 37%) and the specific hydrogen production rate (113.9 mL/g_{VS}/d) reached their highest values when the reaction system was fed with 15 g/L of glucose, corresponding to an S/X ratio of 6 g_{glucose}/g_{VS}. Additionally, under this culture condition, the lag phase time (45 h) was the shortest, and a high substrate degradation efficiency (87%) was achieved.

Key words: Biohydrogen, Fermentation, Kinetic parameters, Glucose, Vermicompost.

Introducción

La crisis energética mundial y el cambio climático son algunas de las principales preocupaciones del siglo XXI, derivadas de la creciente demanda de energía y las emisiones de gases de efecto invernadero en una economía basada en combustibles fósiles (Tahir et al., 2021; Lim & Nandong, 2022; Machhirake et al., 2024). Por esto, la descarbonización del sector energético es un aspecto primordial que motiva el desarrollo de fuentes de energía más limpias y sostenibles (Emodi et al., 2019; Arriaga et al., 2023). Entre las diversas estrategias de energía alternativa, el hidrógeno ha demostrado ser un portador de energía prometedor para los desafíos actuales, debido a su alta densidad energética (122 KJ/g) y características no contaminantes (su combustión produce únicamente agua) (Tahir et al., 2021; Arriaga et al., 2023). Sin embargo, en la actualidad, la tecnología más utilizada para la producción de hidrógeno es el reformado con vapor de gas natural (que aporta el 48% de la demanda mundial de hidrógeno), seguido del reformado de nafta (30%) y la gasificación del carbón (18%). Desafortunadamente, estas tecnologías tradicionales de procesamiento de combustibles fósiles requieren un alto consumo de energía y liberan gases perjudiciales al ambiente. Por su parte, la electrólisis del agua y la gasificación de la biomasa son dos alternativas bien conocidas que utilizan recursos renovables. No obstante, el principal inconveniente de estos enfoques renovables son sus altos requerimientos energéticos (Ghimire et al., 2015; Aly et al., 2017; Lim & Nandong, 2022).

El hidrógeno producido a partir de microorganismos se conoce como biohidrógeno y el proceso se considera libre de carbono, económico y sostenible. Aunque existen varias vías (biofotólisis, fotofermentación, fermentación oscura) para producir biohidrógeno, la ruta de producción fermentativa parece tener mayor potencial ya que no depende de la energía de la luz y presenta mayores tasas y rendimientos (Tahir et al., 2021; Pal et al., 2024). La performance de dicho bioproceso se ve afectada por condiciones ambientales y parámetros operativos como el pH, la temperatura, la concentración de sustrato, los micro y macronutrientes, el tipo de microorganismos, la configuración del biorreactor, entre otros

(Arriaga et al., 2023). Por lo expuesto, y sumado a la baja madurez de la tecnología, el análisis de los parámetros del modelado cinético puede proporcionar información útil sobre el comportamiento de la fermentación que puede guiar el diseño y la operación del proceso, contribuyendo así a la optimización de la producción de biohidrógeno (Lim & Nandong, 2022).

En cuanto a los microorganismos productores de hidrógeno, es necesario destacar que, se pueden encontrar en hábitats naturales como lodos, compost, suelos, sedimentos, lixiviados y desechos orgánicos. El uso de cultivos mixtos es preferible debido a su bajo costo, facilidad de control y alta versatilidad (Braguglia et al., 2018). Si bien los lodos anaeróbicos son la fuente inoculante más utilizada (Arriaga et al., 2023), en respuesta a la búsqueda actual de nuevos recursos naturales como fuente genuina de microorganismos productores de hidrógeno (Wang & Yin, 2017), solo dos trabajos en la literatura científica han propuesto el uso del vermicompost (Oceguera-Contreras et al., 2019; Pascualone et al., 2019). Este es un producto económico pero valioso como fuente natural de bacterias productoras de biohidrógeno. Es un biofertilizante resultante de un proceso biooxidativo de materia orgánica facilitado por lombrices de tierra, y que contiene una población microbiana con abundancia de bacterias pertenecientes al género *Clostridium* (Gómez-Brandón & Domínguez, 2014; Blomström et al., 2016; Pascualone et al., 2019).

Asimismo, una adecuada relación del contenido de sustrato por cantidad de inóculo (S/X) es esencial para un proceso eficaz. Una concentración de sustrato por debajo o por encima del nivel óptimo podría resultar en efectos adversos sobre los productores de hidrógeno, causando la limitación del sustrato o la inhibición por sustrato, respectivamente (Sittijunda & Reungsang, 2012; Elbeshbishy et al., 2017). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar los parámetros cinéticos del bioproceso a fin de evaluar los efectos de la concentración inicial de sustrato en la producción de biohidrógeno mediante ensayos *batch*. Se utilizó un medio definido rico en glucosa como sustrato y vermicompost tratado térmicamente como inóculo.

Materiales y Métodos

Inóculo

Se utilizó un cultivo mixto proveniente de vermicompost comercial (humus de lombriz) enriquecido mediante *shock* térmico. El inóculo, llevado por dilución con agua destilada a la concentración de sólidos volátiles (SV para expresar concentración de biomasa) de 2.5 g_{SV}/L, fue pretratado para eliminar los microorganismos metanogénicos y seleccionar aquellos productores de hidrógeno, en baño de agua a 100 °C durante 15 min y se incubó en la oscuridad a 35 °C, por 24 h.

Medio de cultivo

Se preparó un medio definido utilizando glucosa como fuente de carbono y sales inorgánicas (mg/L): NH₄Cl, 3545.5; K₂HPO₄, 125; MgCl₂·6H₂O, 100; MnSO₄·H₂O, 9.8; FeSO₄·7H₂O, 25; CuSO₄·5H₂O, 5; CoCl₂·6H₂O, 135 y NaHCO₃, 6720. El pH inicial fue ajustado con una solución de H₂SO₄ 1 M.

Sistema de cultivo

Los experimentos de producción de hidrógeno se llevaron a cabo mediante cultivos *batch*, empleándose 80 mL de caldo de fermentación en botellas serológicas de 120 mL. Las botellas fueron selladas herméticamente con tapones de caucho y grapas metálicas. Inicialmente se gasearon con nitrógeno durante 60 s para lograr condiciones

anaeróbicas. Se realizaron diferentes ensayos variando la concentración inicial de glucosa de 5 a 50 g/L en el medio de cultivo definido. En cada botella se inoculó 8 mL de material de siembra a 72 mL de medio de cultivo rico en glucosa a pH inicial 5.5 y se incubó a 35 °C.

Métodos analíticos

El volumen de gas producido se midió por el método de desplazamiento del émbolo (Owen et al., 1979) utilizando jeringas de 60 mL equipadas con agujas de calibre 20. La composición del biogás (H₂, CO₂ y CH₄) se determinó en un cromatógrafo de gases (HP 5890 series II plus), equipado con un detector de conductividad térmica. Se utilizó una columna capilar HP-PLOT/Q de 30 m x 0.53 mm. El horno operó a 60 °C por 3 min y 15 °C/min hasta 250 °C, la temperatura del inyector fue 200 °C y la temperatura del detector fue 260 °C. Se utilizó He como gas portador. La concentración de glucosa se midió a través de la cuantificación de azúcares reductores por la técnica colorimétrica del DNS (Miller, 1959). Se usaron procedimientos estandarizados para determinar el pH y los sólidos volátiles (APHA et al., 2023).

Modelado cinético

El modelo modificado de Gompertz (Ec. 1) ha sido ampliamente utilizado para describir el progreso de la producción acumulada de hidrógeno obtenida en un experimento *batch* (Bo et al., 2012; Wang & Yin, 2017; Velázquez-Martí et al., 2018):

$$H = H_{m\acute{a}x} \cdot e \left\{ -e \left[\frac{R_{m\acute{a}x} \cdot e}{H_{m\acute{a}x}} \cdot (\lambda - t) + 1 \right] \right\} \quad (\text{Ec. 1})$$

donde H (mL) corresponde a la cantidad de hidrógeno producido en el tiempo de incubación t (h), H_{máx} (mL) es la cantidad máxima de hidrógeno producido, R_{máx} (mL/h) es la velocidad máxima de producción de hidrógeno, e es la base de los logaritmos naturales (2,718) y λ (h) representa el tiempo de la fase lag. Los valores de H_{máx}, R_{máx} y λ para cada *batch* se determinaron ajustando los datos de producción de hidrógeno mediante la Ec. 1 con una regresión de mínimos cuadrados no lineal y minimizando con el método de Levenberg-Marquardt.

La producción de hidrógeno (mL/L) y la velocidad de producción volumétrica de

hidrógeno (mL/L/d) fueron calculadas considerando el volumen de trabajo (80 mL) en base a H_{máx} y R_{máx}, respectivamente. La velocidad de producción específica de hidrógeno se determinó dividiendo R_{máx} por el peso de biomasa añadida (SV) y se expresó en mL/g_{SV}/d (Hao et al., 2006). El rendimiento de hidrógeno se calculó a partir de H_{máx} y se definió como la cantidad de hidrógeno producido por la cantidad de glucosa consumida. La eficiencia de degradación del sustrato se estimó dividiendo la cantidad de sustrato consumido por la cantidad de sustrato inicial.

Asimismo, el modelo de Michaelis-Menten (Ec. 2) fue utilizado para describir los efectos de las distintas concentraciones de sustrato en las tasas de producción de hidrógeno (Chen et al., 2006).

$$R_{\text{máx}} = R_s \cdot \frac{S}{K_s + S} \quad (\text{Ec. 3.2})$$

donde $R_{\text{máx}}$ (mL/h) es la velocidad máxima de producción de hidrógeno durante el bioensayo, R_s (mL/h) es la velocidad de saturación, S (g/L) es la concentración de sustrato y K_s (g/L) es la constante media de saturación correspondiente a la concentración de sustrato que produce $\frac{1}{2} R_s$ (Scragg, 1996; Wang & Yin, 2017).

Los valores de las constantes K_s y R_s se obtuvieron a partir de la ecuación de Lineweaver-Burk, la cual es una de las formas linealizadas más frecuentemente empleada de la ecuación de Michaelis-Menten (Scragg, 1996).

Resultados y discusión

El contenido de glucosa en la carga de los biorreactores *batch* fue variado con el objeto de evaluar sus efectos sobre el proceso de fermentación a 35 °C y pH inicial 5.5. Para ello, se trabajó con concentraciones iniciales de glucosa en el medio de cultivo definido

entre 5 y 50 g/L, mientras que el contenido de inoculación fue de 2.5 g SV/L. Este valor fue seleccionado para el proceso fermentativo, dado que en experimentos previos la mayor producción de hidrógeno se logró con 2.5 gsv/L (Pascualone, 2019).

En todos los experimentos realizados, el biogás producido estuvo constituido solo por hidrógeno (24-37%) y dióxido de carbono (63-76%), no detectándose gas metano. Esto revela que el pre-tratamiento de *shock* térmico al inóculo fue eficaz en la inhibición de microorganismos metanogénicos. La Figura 1 muestra el efecto del tiempo de fermentación sobre la producción acumulada de hidrógeno, en función de la concentración inicial de glucosa. El nivel más alto de la bioproducción de hidrógeno se alcanzó empleando una concentración de sustrato de 15 g/L luego de 90 h de incubación. La generación de este gas fue despreciable cuando se emplearon concentraciones de glucosa < 5 g/L.

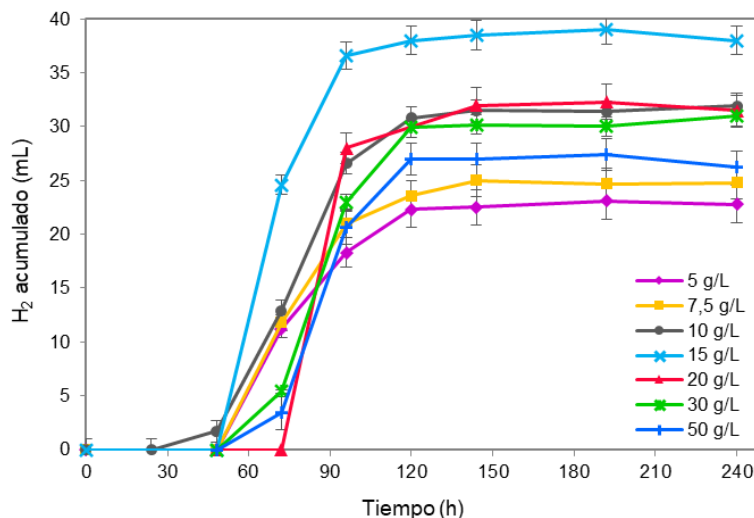


Figura 1. Variación de la acumulación de gas hidrógeno a 35 °C con el tiempo, a diferentes concentraciones iniciales de sustrato.

Asimismo, los datos experimentales de la Figura 1 fueron ajustados con la ecuación modificada de Gompertz, obteniéndose

coeficientes de correlación mayores a 0.97 para todos los sistemas *batch*. Los parámetros cinéticos obtenidos para

Artículos

diferentes concentraciones de sustrato inicial se resumen en la Tabla 1. Como puede observarse, el valor de $H_{m\acute{a}x}$ aumentó 1.7 veces cuando el contenido inicial de glucosa se incrementó de 5 a 15 g/L; sin embargo, disminuyó con incrementos adicionales en las concentraciones iniciales de sustrato. La máxima producción de hidrógeno alcanzada fue de 38.4 mL (480 mL/L) con 37% v/v del mismo en el biogás cuando se cargó el biorreactor con 15 g/L, correspondiente a una

relación S/X de 6 $g_{glucosa}/g_{SV}$. Con respecto al valor de $R_{m\acute{a}x}$, se aprecia nuevamente un marcado aumento de 0.5 a 1.0 mL/h con el incremento de la concentración inicial de glucosa de 5 a 15 g/L, manteniéndose sin variaciones significativas cuando el contenido de sustrato varió de 20 a 50 g/L. Esto último se correlaciona con una fase de adaptación más prolongada, lo cual podría responder a una condición de inhibición por exceso de sustrato.

Tabla 1. Efecto de la concentración inicial de glucosa sobre el bioproceso de generación de hidrógeno.

Glucosa (g/L)	Relación S/X	H ₂ (%)	Parámetros cinéticos			H ₂ (mL/L)
			H _{máx} (mL)	R _{máx} (mL/h)	λ (h)	
5	2	24 ± 2	22.9	0.5	50	286
7.5	3	29 ± 2	24.7	0.6	53	309
10	4	34 ± 2	31.5	0.8	55	394
15	6	37 ± 1	38.4	1.0	45	480
20	8	32 ± 1	31.8	0.9	58	398
30	12	31 ± 2	31.0	0.9	66	387
50	20	29 ± 3	27.0	0.9	69	337

S/X: relación sustrato/inóculo ($g_{glucosa}/g_{SV}$).

H_{máx}: cantidad máxima de hidrógeno producido.

R_{máx}: velocidad máxima de producción de hidrógeno.

λ: tiempo de la fase lag.

Adicionalmente, se utilizó el modelo de Michaelis-Menten para describir el efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad máxima de biogeneración de hidrógeno. En la Figura 2 se puede observar la gráfica de los datos experimentales y los predichos por el modelo (en línea continua), la cual presenta su forma hiperbólica característica. La velocidad máxima de producción de hidrógeno fue dependiente de la concentración inicial del sustrato hasta 15 g/L. A concentraciones superiores, la velocidad del proceso fermentativo dejó de ser proporcional al contenido inicial de sustrato tendiendo a alcanzar un valor de saturación asintótico

(R_s). En acuerdo con lo reportado por Chen et al. (2006) para procesos que involucran la fermentación de carbohidratos puros, se puede señalar que ya a relaciones S/X relativamente bajas, las velocidades máximas de producción de hidrógeno tendieron a la saturación.

Por su parte, la linealización de la ecuación de Michaelis-Menten mediante el método de Lineweaver-Burk permitió estimar los valores de la velocidad de saturación del bioproceso (R_s) y la constante media de saturación (K_s) que representa la afinidad de los microorganismos por el sustrato, siendo 1.1 mL/h y 6.0 g/L, respectivamente.

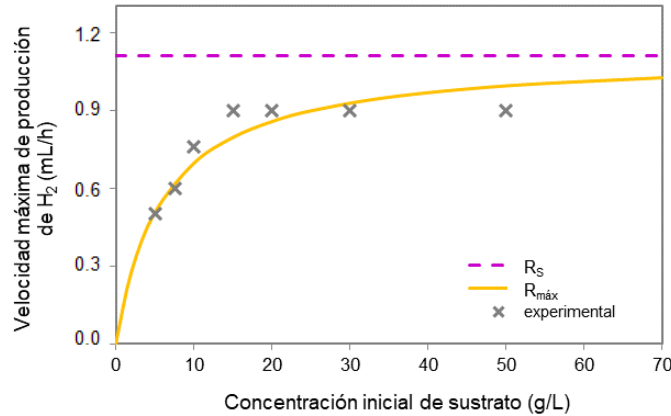


Figura 2. Efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad máxima de producción de hidrógeno.

En la Figura 3 se ilustra la variación del rendimiento y la velocidad de producción específica de hidrógeno con la concentración inicial de sustrato. Se puede apreciar que el rendimiento de hidrógeno en los ensayos *batch* osciló marcadamente entre 66.5 y 42.5 mL/g cuando se trabajó con los contenidos iniciales de sustrato más bajos (5-15 g/L); mientras que, a concentraciones más altas se mantuvo en un valor promedio de 54 mL/g. Con respecto a la velocidad de producción específica de hidrógeno, ésta duplicó aproximadamente su valor (de 58.6 a 113.9 mL/g_{SV}/d) cuando el contenido inicial de glucosa se incrementó de 5 a 15 g/L, para luego mantenerse sin grandes variaciones (alrededor de 105 mL/g_{SV}/d) a concentraciones crecientes de sustrato inicial por encima de 15 g/L.

En un rango apropiado, el incremento del contenido inicial de glucosa como fuente de carbono (acompañado con el aumento de la relación S/X) puede mejorar la capacidad fermentativa de las bacterias productoras de hidrógeno durante el bioproceso; sin embargo, la misma puede verse afectada a concentraciones iniciales demasiado altas del sustrato. A partir de los resultados obtenidos se considera que la concentración inicial de glucosa óptima para el proceso fermentativo de producción de hidrógeno fue de 15 g/L, correspondiente a una relación S/X de 6 g_{glucosa}/g_{SV}. Bajo esta condición experimental, el tiempo de la fase lag (45 h) fue el más corto, mientras que el contenido de hidrógeno en el biogás (37% v/v), la producción máxima de hidrógeno (480 mL/L) y su velocidad de producción específica (113.9 mL/g_{SV}/d) fueron los de mayor magnitud.

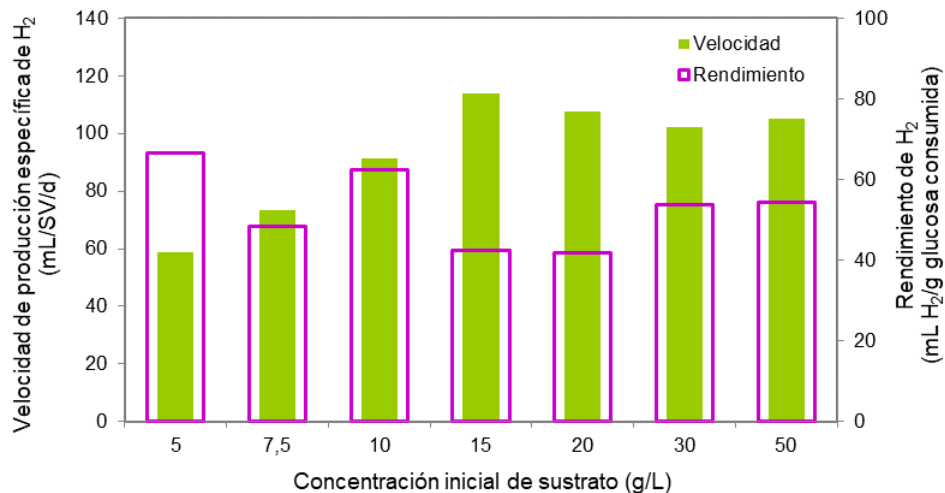


Figura 3. Velocidad de producción específica de hidrógeno y su rendimiento en función de la concentración inicial de sustrato.

En cuanto a la eficiencia de degradación del sustrato, el efecto de las distintas concentraciones de glucosa con que las que operaron los biorreactores *batch* se muestra en la Figura 4. Tal como se ilustra, el contenido de glucosa se agotó rápidamente a bajas concentraciones iniciales de sustrato, entre 5 y 15 g/L, las cuales se corresponden con relaciones S/X iguales o menores a 6 $\text{g}_{\text{glucosa}}/\text{g}_{\text{SV}}$. En este rango, el valor promedio de la remoción fue del 87%.

Por el contrario, concentraciones del sustrato por encima de 15 g/L ($S/X > 6 \text{ g}_{\text{glucosa}}/\text{g}_{\text{SV}}$) afectaron desfavorablemente a la eficiencia de degradación del mismo, siendo tan solo del 14% a 50 g/L. La marcada tendencia a disminuir que se observa en la Figura 4 pone de manifiesto un bioproceso inhibido por altas concentraciones de sustrato (Sittijunda & Reungsang, 2012).

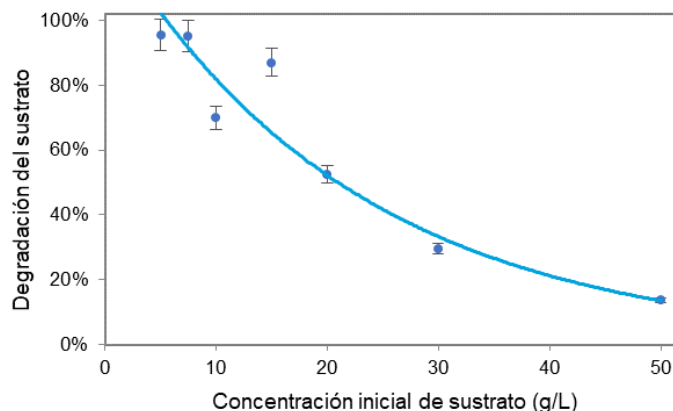


Figura 4. Eficiencia de degradación del sustrato a diferentes concentraciones iniciales de glucosa.

Conclusiones

Los experimentos de producción de biohidrógeno empleando un medio de cultivo definido rico en glucosa y vermicompost pretratado mediante *shock* térmico como biomasa inoculante, permitieron determinar los parámetros cinéticos del bioproceso y, por consiguiente, seleccionar las condiciones de operación que posibilitan la mayor velocidad de producción de hidrógeno en los biorreactores de fermentación *batch*. Se demostró que la relación de contenido entre glucosa y vermicompost afecta significativamente la cantidad de biohidrógeno producida. La concentración de glucosa más adecuada para el proceso de generación de hidrógeno fue 15 g/L, correspondiente a una relación sustrato/inóculo (S/X) de 6 $\text{g}_{\text{glucosa}}/\text{g}_{\text{SV}}$. Bajo estas condiciones operativas, el tiempo de la fase lag (45 h) fue el más corto, en tanto que, el contenido de hidrógeno en el biogás (37% v/v), la formación máxima de hidrógeno (480 mL/L) y su velocidad de producción específica (113.9 mL/g_{SV}/d) alcanzaron los valores más altos. Estos resultados son valiosos a la hora de diseñar bioprocesos con sustratos más complejos para la producción

de hidrógeno utilizando un novedoso consorcio a partir de vermicompost.

Agradecimientos

Se desea agradecer el apoyo financiero del CIQA-UTN de Córdoba, Argentina, y reconocer a la UTN Argentina por la beca de investigación otorgada oportunamente.

Referencias

Aly SS, Imai T, Hassouna MS, Nguyen D, Higuchi T, Kanno A, Yamamoto K, Akada R & Sekine M (2017). Identification of factors that accelerate hydrogen production by *Clostridium butyricum* RAK25832 using casamino acids as a nitrogen source. *Int. J. Hydrogen Energ.* 43:5300-5313.

APHA, AWWA, WEF (2023) Standard methods for the examination of water and wastewater. 24th Ed. Washington, USA: American Public Health Association.

Arriaga S, Carboni MF & Lens P (2023) Effect of static magnetic field exposure on biohydrogen production via dark fermentation of glucose. *Process Saf. Environ. Prot.* 176:375-388.

- Blomström AL, Lalander C, Komakech AJ, Vinnerås B & Boqvist S (2016) A metagenomic analysis displays the diverse microbial community of a vermicomposting system in Uganda. *Infect. Ecol. Epidemiology* 6:32453.
- Bo W, Yongye L, Yahua Q, Yang Y, Qiang S, Wei W & Jianlong W (2012) Technology research on bio-hydrogen production. *Procedia Eng.* 43:53-58.
- Braguglia C., Gallipoli A., Gianico A., Pagliaccia P. (2018). Anaerobic bioconversion of food waste into energy: A critical review. *Bioresour. Technol.* 248:37-56.
- Chen WH, Chen SY, Khanal SK & Sung S (2006) Kinetic study of biological hydrogen production by anaerobic fermentation. *Int. J. Hydrogen Energ.* 31:2170-2178.
- Elbeshbishy E, Dhar BR, Nakhla G & Lee H-S (2017) A critical review on inhibition of dark biohydrogen fermentation. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 79:656-668.
- Emodi NV, Chaiechi T & Rabiul Alam Beg ABM (2019) A techno-economic and environmental assessment of long-term energy policies and climate variability impact on the energy system. *Energy Policy* 128:329-346.
- Ghimire A, Frunzo L, Pirozzi F, Trably E, Escudie R, Lens PNL & Esposito G (2015) A review on dark fermentative biohydrogen production from organic biomass: Process parameters and use of by-products. *Appl. Energy* 144:73-95.
- Gómez-Brandón M & Domínguez J (2014) Recycling of solid organic wastes through vermicomposting: Microbial community changes throughout the process and use of vermicompost as a soil amendment. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 44:1289-1312.
- Hao X, Zhou M, Yu H, Shen Q & Lei L (2006) Effect of sodium ion concentration on hydrogen production from sucrose by anaerobic hydrogen-producing granular sludge. *Chin. J. Chem. Eng.* 14:511-517.
- Lim SW & Nandong J (2022) Modeling of biohydrogen production using generalized multi-scale kinetic model: Impacts of fermentation conditions. *Int. J. Hydrogen Energ.* 47:17926-17945.
- Machhirake NP, Vanapalli KR, Kumar S & Mohanty B (2024) Biohydrogen from waste feedstocks: An energy opportunity for decarbonization in developing countries. *Environ. Res.* 252:119028.
- Miller GL (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31:426-428.
- Oceguera-Contreras E, Aguilar-Juárez O, Oseguera-Galindo D, Macías-Barragán J, Bolaños-Rosales R, Mena-Enríquez M, Arias-García A, Montoya-Buelna M, Graciano-Machuca O & De León-Rodríguez A (2019) Biohydrogen production by vermicompost-associated microorganisms using agro industrial wastes as substrate. *Int. J. Hydrogen Energ.* 44:9856-9865.
- Owen WF, Stuckey DC, Healy Jr. JB, Young LY & McCarty PL (1979) Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. *Water Res.* 13:485-492.
- Pal D, Banerjee S, Chandra S, Das D, Pandit S, Roy A, Hasan M, Khandaker MU & Alreshidi MA (2024). The generation of biohydrogen from pretreated algal biomass in batch fermentation mode. *Int. J. Hydrogen Energ.* Available online. In Press.
- Pascualone MJ, Gómez Costa MB & Dalmaso PR (2019) Fermentative biohydrogen production from a novel combination of vermicompost as inoculum and mild heatpretreated fruit and vegetable waste. *Biofuel Res. J.* 6:1046-1053.
- Pascualone MJ (2019) Producción de biohidrógeno por fermentación: efecto de la concentración de inóculo. *Revista Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 6:15-19.
- Scragg A (1996) Biotecnología para ingenieros. Sistemas biológicos en procesos tecnológicos. 1ra. Edición. México: Editorial Limusa.
- Sittijunda S & Reungsang A (2012) Biohydrogen production from waste glycerol and sludge by anaerobic mixed cultures. *Int. J. Hydrogen Energ.* 37:13789-13796.

Artículos

Tahir N, Nadeem F & Zhang Q (2021) Optimisation of photo-fermentative biohydrogen production from corn stover through the synergetic effect of ultrafine grinding and SnO₂ nanomaterials. *J. Clean. Prod.* 328:129631.

Velázquez-Martí B, Meneses-Quelal OW, Gaibor-Chavez J & Niño-Ruiz Z (2018) Review of Mathematical Models for the Anaerobic

Digestion Process. En: Anaerobic Digestion, J. Rajesh Banu, IntechOpen.

Wang J & Yin Y (2017) Biohydrogen production from organic wastes. *Green Energy and Technology*. Singapore: Springer Nature.

Reacción al fuego de tres maderas tropicales impregnadas con azoles

Javier Ramón Sotomayor Castellanos^{1*}, Luz Elena Alfonsina Ávila Calderón¹
¹Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Ciudad Universitaria, Morelia,
Michoacán, 58030

*Autor de correspondencia
javier.sotomayor@umich.mx

Resumen

El objetivo de la investigación fue determinar la densidad, el tiempo de ignición, la pérdida de masa y la retención de azoles con concentraciones de uno, dos y tres por ciento en madera de *Tilia mexicana*, *Swietenia macrophylla* y *Andira inermis*, en las que se realizaron las pruebas de reacción al fuego. Las variables de respuesta fueron la densidad de la madera, la retención de azoles, el tiempo de ignición y la pérdida de masa. Los factores de variación fueron la especie y la concentración. La retención de azoles se incrementa a medida que la concentración aumenta. Las magnitudes de *T. mexicana* son mayores respecto a las de *S. macrophylla* y *A. inermis*. Los tiempos de ignición se prolongan a medida que las concentraciones de azoles aumentan. Se observa que los tiempos de ignición son mayores en función del incremento de las densidades entre especies. Para las maderas de *T. mexicana* y *S. macrophylla* la pérdida de masa disminuye a medida que la concentración de azoles aumenta. Las especies de madera con mayores densidades presentan un mejor comportamiento frente al fuego. Su tiempo de ignición es mayor comparativamente con el de maderas de menor densidad. La pérdida de masa disminuye proporcionalmente a la densidad de la madera. Esta relación es lineal y similar a las de las tendencias reportadas en la bibliografía para otras especies.

Palabras claves: *Tilia mexicana*, *Swietenia macrophylla*, *Andira inermis*, Retención de azoles, Tiempo de ignición, Pérdida de masa.

Abstract

The objective of the research was to determine the density, ignition time, mass loss and retention of azoles with concentrations of one, two and three percent in wood of *Tilia mexicana*, *Swietenia macrophylla* and *Andira inermis* in which the reaction to fire tests were carried out. The response variables were wood density, azole retention, ignition time and mass loss. Variation factors were species and concentration. Azole retention increased as concentration increased. The magnitudes of *T. mexicana* are greater than those of *S. macrophylla* and *A. inermis*. It is observed that the times are longer as azole concentrations increase. Likewise, ignition times are observed to be longer as densities increase between species. For *T. mexicana* and *S. macrophylla* wood, mass loss decreases as azole concentration increases. Wood species with higher densities show better fire behavior. Their ignition time is longer compared to lower density woods. Mass loss decreases proportionally to wood density. This relationship is linear and like trends reported in the literature for other species.

Key words: *Tilia mexicana*, *Swietenia macrophylla*, *Andira inermis*, Azole retention, Ignition time, Mass loss.

Introducción

El deterioro de la madera ocasionado por agentes biológicos y/o físicos se puede mitigar con sustancias protectoras. Sin embargo, sus efectos negativos para el medio ambiente restringen su uso generalizado. De tal forma que la tendencia tecnológica contemporánea se orienta hacia el empleo de preservantes amigables con el medio ambiente (Baraúna et al., 2017, Barbero et al., 2018). Los azoles son biocidas solubles en agua, amigables con el medio ambiente y se utilizan como protectores de la madera frente a su deterioro (García et al., 2017, Calovi et al., 2024). Existe evidencia experimental del efecto preservador de los azoles en la madera (Teng et al., 2018, Derkyi, 2020, Jørgensen & Heick, 2021). En las investigaciones se adaptan diferentes concentraciones de preservante y de esta forma, se logran porcentajes de retención particulares a cada especie y caso de estudio. Estos experimentos se realizan preferentemente con tratamientos de impregnación que aplican presión (Presley et al., 2022).

La madera se utiliza en las industrias de la construcción, la papelera, la fabricación de muebles y la producción de combustibles porque es una materia prima natural, biodegradable y renovable. Sin embargo, hay poca investigación realizada sobre su biotecnología. Debido a la creciente preocupación por el medio ambiente, la investigación sobre las condiciones saludables del uso de preservantes es un tema actual. Los enfoques biotecnológicos en el campo de la protección de la madera buscan mejorar la capacidad de tratamiento de la madera con protectores y reemplazar los productos químicos con agentes de control biológico (Wegner et al., 2010). El tebuconazol es un azol de cobre y biosida que se usa para preservar la madera y no contamina el medio ambiente. Su interacción con la lignina de la madera es principalmente como fijador y es necesario para que funcione para reducir las emisiones contaminantes al medio ambiente (Yu et al., 2009). El tebuconazol afecta los hongos simbióticos y la abundancia relativa de saprófitos y patógenos, lo que indica que ofrece una nueva estrategia de manejo de insectos para retrasar el aumento de la resistencia a los insecticidas (Cai et al., 2023).

La retención de una sustancia protectora en una pieza de madera indica la cantidad de sustancia activa que retiene después de un tratamiento de impregnación (Ávila et al., 2017). La densidad de la madera es el parámetro de referencia para estimar sus propiedades mecánicas (Niklas & Spatz, 2010). El tiempo de ignición se define como el lapso requerido para percibir la flama sostenida en la superficie de una muestra expuesta a un flujo de calor incidente y es un factor importante para evaluar el comportamiento de combustión de los materiales (Boonmee & Quintiere, 2002). Cuanto más corto sea el tiempo de ignición, más inflamable es el material (Xu et al., 2015). La pérdida de masa como resultado de la exposición de la madera al fuego es proporcional a la densidad de la madera (Rocha & Landesmann, 2016) y depende de la especie, de la temperatura y del tiempo de exposición. A menor pérdida de masa de una especie expuesta al fuego en condiciones controladas de laboratorio, mejor su comportamiento en caso de incendio (Ragan et al., 2016).

Cuando la superficie de un elemento de madera se expone a una fuente de calor externa, sea por radiación térmica o por convección de gases calientes, el calor se transfiere desde la superficie hacia el interior. De tal forma que la temperatura en diferentes profundidades del sólido se incrementa con el tiempo. En consecuencia, el sólido experimenta una descomposición térmica y un proceso de degradación química para producir carbón y gases combustibles (Shen et al., 2023). Este proceso se define como la ignición de la madera.

Los datos sobre la factibilidad de una especie para ser impregnada con azoles empleando el método del baño caliente-frío son escasos. Igualmente, es limitada la información sobre su efecto como retardante a la combustión de la madera (Mensah et al., 2023). En la presente investigación se interroga sobre la capacidad para retener azoles de maderas tropicales y su influencia sobre la variación de su densidad, tiempo de ignición y pérdida de masa, cuando la madera es expuesta al fuego en condiciones controladas de laboratorio.

Para responder a esta duda, la hipótesis de trabajo plantea que la retención y el tiempo de

ignición aumentan a medida que la concentración de preservante se incrementa, y en sentido opuesto, que la pérdida de masa disminuye. Para verificar esta hipótesis, el objetivo de la investigación fue determinar la densidad, el tiempo de ignición, la pérdida de masa y la retención de azoles con concentraciones de uno, dos y tres por ciento en tres maderas tropicales.

Para alcanzar este objetivo se realizaron pruebas de reacción al fuego en madera de *Tilia mexicana*, *Swietenia macrophylla* y *Andira inermis*. Estas especies tropicales son endémicas de México y Centroamérica y tienen potencial tecnológico para su empleo en la industria de la madera y sus productos derivados (Cordero & Boshier, 2003, Tamarit & López, 2007, Rendón et al., 2021).

Materiales y Métodos

Se prepararon 120 probetas de *T. mexicana*, *S. macrophylla* y *A. inermis* con dimensiones de 20 mm x 20 mm x 150 mm orientadas en las direcciones radial, tangencial y longitudinal respectivamente. Las probetas contenían únicamente madera de duramen y estaban libres de defectos de crecimiento. Las probetas se almacenaron en una cámara de acondicionamiento con temperatura de 20 °C y una humedad relativa del aire de 65% hasta que alcanzaron un contenido de humedad en

equilibrio de 11%. El contenido de humedad se determinó por el método de diferencia de pesos de acuerdo con la norma ISO 13061-1:2014 (ISO, 2014a), y la densidad de la madera se determinó de acuerdo con la norma ISO 13061-2:2014 (ISO, 2014b).

El preservante de azoles de cobre se preparó con apego a la Norma NMX-C-178-ONNCCE-2001 (ONNCCE, 2001) en concentraciones de 1%, 2% y 3%. El método de baño caliente-frío siguió el procedimiento reportado en Sotomayor & Ávila (2021). La retención se determinó de acuerdo con Simsek et al. (2013). La penetración se midió por métodos colorimétricos de acuerdo con la norma mexicana NMX-C-410-ONNCCE-1999 (ONNCCE, 1999) y se clasificó de acuerdo con Pereira et al. (2017). Las pruebas de reacción al fuego (Figura 1) se realizaron siguiendo el protocolo propuesto por Sotomayor & Gallegos (2018). La probeta se expuso durante dos minutos al fuego directo de la flama de 9 cm de altura de un mechero de laboratorio tipo *Meker-Fisher*, con regulación de aire y de gas, con quemador de 30 mm de diámetro y temperatura máxima de 1300 °C. Con un cronómetro, se midió el tiempo necesario para que apareciera la ignición en al menos tres caras de la probeta expuestas a la flama. Esta medición describe el tiempo de ignición. La pérdida de masa se calculó de acuerdo con Yuksel et al. (2014).

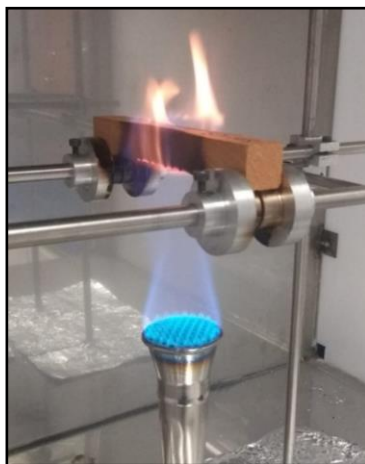


Figura 1. Prueba de reacción al fuego.

Diseño experimental

La unidad experimental consistió en 120 probetas de madera de *T. mexicana*, *S. macrophylla* y *A. inermis*. Para cada especie se estudiaron tres grupos experimentales de

diez probetas (Réplicas) cada uno y un grupo de control también de diez unidades. Para la concentración (C) se consideró el tratamiento con cuatro niveles: tres concentraciones C = 1% (n = 10), C = 2% (n = 10) y C = 3% (n =

10) y como grupo de control se consideró el no tratamiento de impregnación (concentración $C = 0\%$, $n = 10$). Las variables de respuesta fueron la densidad de la madera (ρ_{CH}), la retención de azoles (R), el tiempo de ignición (t_{ign}) y la pérdida de masa (Δm). Los factores de variación fueron la especie y la concentración. Con este procedimiento se estudiaron cuarenta y ocho muestras independientes entre sí, homogéneas y recolectadas completamente al azar (tres especies por cuatro niveles por cuatro variables de respuesta).

Para las muestras agrupadas de cada especie se realizaron pruebas de normalidad y de verificación de varianza. Se realizaron además análisis de esta medida para un nivel de confianza del 95%. El criterio de demarcación para aceptar una diferencia estadísticamente significativa fueron valores $P_{(\alpha = 0,05)} < 0,05$. Se calcularon correlaciones lineales ($y = ax + b$) con sus coeficientes de determinación (R^2) entre las retenciones, los tiempos de ignición y las pérdidas de masa como variables dependientes de la densidad considerada como variable explicativa.

Resultados y discusión

Para las tres especies en estudio, las pruebas de normalidad confirmaron la regularidad en las distribuciones de todas las muestras correspondientes a las tres concentraciones ($C = 1\%$, $C = 2\%$ y $C = 3\%$) y a la del grupo de control ($C = 0\%$). En el mismo sentido, las

pruebas de verificación de varianza de las muestras correspondientes a cada especie señalan que no existen diferencias estadísticamente significativas entre sus desviaciones estándar. Estos resultados permitieron aplicar un enfoque comparativo del efecto de las concentraciones de azoles y su efecto en la retención, la densidad, el tiempo de ignición y la pérdida de masa. La madera se estabilizó a un contenido de humedad de 11%, lo que permitió considerar las probetas en estado seco y que su contenido de humedad no interviene en el fenómeno observado.

En contraste con lo anteriormente mencionado, las tres especies se diferencian entre sí por los valores promedio de sus respectivos parámetros (Tabla 1) desde dos ángulos. Por una parte, se confirma que los ensayos relativos al comportamiento de la madera al fuego originan resultados con variabilidad, y por la otra, se colige que existe una diferencia estadísticamente significativa entre los resultados correspondientes a las tres especies. Una interpretación de estos resultados es que el comportamiento al fuego de la madera es singular a cada especie (Pánek et al., 2021), argumento que coincide con las conclusiones de Friquin (2011). Por lo tanto es posible afirmar que en la literatura sobre el tópico de investigación está documentada la dificultad para obtener resultados experimentales precisos y/o coherentes (Babrauskas, 2005).

Tabla 1. Densidad, retención, tiempo de ignición y pérdida de masa.

Especies	Concentración		ρ_{CH} (kg m^{-3})	R (kg m^{-3})	t_{ign} (s)	Δm (%)
<i>Tilia mexicana</i>	C = 0%	M	465	-	35	26
		CV	(10)	-	(15)	(10)
	C = 1%	M	449	4,2	45	23
		CV	(12)	(2)	(15)	(16)
	C = 2%	M	417	6,3	46	22
		CV	(12)	(14)	(14)	(14)
	C = 3%	M	429	8,0	52	22
		CV	(16)	(15)	(11)	(17)
<i>Swietenia macrophylla</i>	C = 0%	M	543	-	49	19
		CV	(10)	-	(9)	(11)
	C = 1%	M	521	0,2	63	22
		CV	(9)	(12)	(13)	(17)

Artículos

	C = 2%	M	537	1,3	61	25
		CV	(9)	(2)	(14)	(8)
	C = 3%	M	522	2,3	61	25
		CV	(6)	(29)	(5)	(9)
<i>Andira inermis</i>	C = 0%	M	738	-	65	14
		CV	(5)	-	(21)	(15)
	C = 1%	M	736	0,5	79	15
		CV	(4)	(21)	(13)	(11)
	C = 2%	M	716	1,2	69	16
		CV	(4)	(24)	(11)	(7)
	C = 3%	M	761	1,6	72	16
		CV	(6)	(16)	(5)	(16)

ρ_{CH} = Densidad; R = Retención; t_{ign} = Tiempo de ignición; Δm = Pérdida de masa; C = Concentración; μ = Media; CV = Coeficiente de variación en por ciento y entre paréntesis; Contenido de humedad (CH) = 11%.

Impregnado con azoles

El impregnado de la madera con azoles modifica su color natural. A mayor concentración, la coloración se oscurece (Figura 2). Este resultado es similar al reportado por Jirouš-Rajković & Miklečić (2021) quienes señalan la modificación del color natural de la madera cuando es tratada

con azoles. Este fenómeno también es observado por Lee et al. (2015) al impregnar madera de *Pinus densiflora* ($\rho_{CH} = 470 \text{ kg m}^{-3}$) con azoles de cobre en concentraciones de 0,05% a 1,25%, logrando retenciones desde 0,37 kg m^{-3} hasta 9,44 kg m^{-3} respectivamente.



Tilia mexicana: C = 0% (sin tratamiento), C = 1%, C = 2%, C = 3%



Swietenia macrophylla: C = 0% (sin tratamiento), C = 1%, C = 2%, C = 3%



Andira inermis: C = 0% (sin tratamiento), C = 1%, C = 2%, C = 3%

Figura 2. Modificación del color de la madera de acuerdo con la concentración (C) de azoles.

Retención

La retención de azoles se incrementa a medida que la concentración aumenta (Tabla 1 y Figura 3). Las magnitudes de *T. mexicana* son mayores respecto a las de *S. macrophylla* y *A. inermis*. Las retenciones de estas dos últimas especies son similares entre ellas. La variabilidad de la retención de azoles en *T. mexicana*, caracterizada por el coeficiente de

variación, se incrementa hasta 15% a medida que la concentración aumenta a partir del grupo de control. Por su parte, el coeficiente de variación de *S. macrophylla* se incrementa hasta un 29% y el de *A. inermis* es de 16%. Así, la intensidad de la concentración de azoles usada implica que la magnitud de su retención se amplifique.

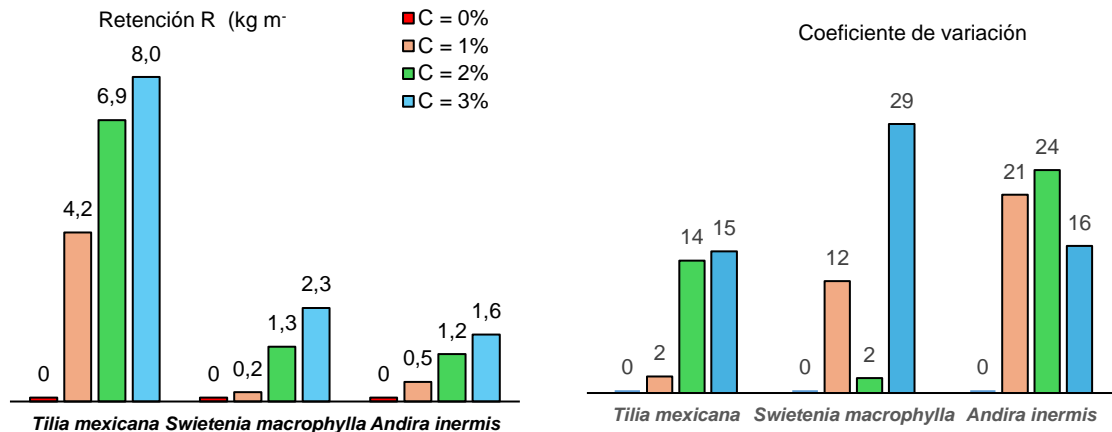


Figura 3. Comparativo de la retención (R) y de su coeficiente de variación (CV) en función de la concentración (C). Datos de la Tabla 1.

Para cada una de las tres especies, el análisis de varianza de las retenciones indica diferencias estadísticamente significativas ($P_{(\alpha = 0,05)} < 0,001$) entre las concentraciones 1%, 2% y 3% y el testigo C = 0% considerado grupo de control. Sus coeficientes de variación no presentan una tendencia definida respecto a las concentraciones de azoles aplicadas. La regresión entre la retención y la densidad indica una tendencia negativa y presenta una amplia dispersión de los valores particulares a cada especie (Figura 4). Como resultado, se obtiene un coeficiente de determinación muy

bajo ($R^2 = 0,34$). En las figuras cuatro, siete y diez, los datos al interior de los recuadros representan valores correspondientes a las concentraciones detalladas en la Tabla 1.

Estos resultados indican por una parte, que la retención de azoles aumenta a medida que sus concentraciones se incrementan, y por otra, que la retención de azoles decrece cuando la densidad de la madera disminuye. Este efecto es particular a cada especie.

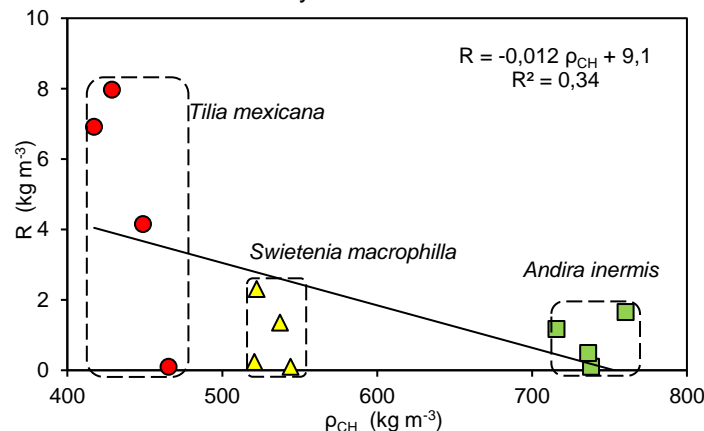


Figura 4. Dispersión y correlación de la retención (R) en función de la densidad (ρ_{CH}).

Las magnitudes de las retenciones de *T. mexicana* son similares a las reportadas por Bahchevandziev & Mihajlovski (2021) quienes obtuvieron una retención de azoles de 5 kg m^{-3} en madera de *Picea abies* con una densidad similar a la de *T. mexicana* de $\rho_{CH} = 450 \text{ kg m}^{-3}$. En el mismo sentido, Lee et al. (2006) reportan retenciones de azoles de $6,5 \text{ kg m}^{-3}$ en *Pinus koraiensis* y de $5,5 \text{ kg m}^{-3}$ para *Larix leptolepis*, ambas especies con densidades de 450 kg m^{-3} y similares a la de *T. mexicana*.

A partir de la concentración de azoles de 1%, las retenciones de *T. mexicana* satisfacen el criterio de riesgo de deterioro del nivel 5 sugerido por la Asociación Americana de Protección de la Madera, en adelante AWPA por sus siglas en inglés *American Wood Protection Association*, en la norma AWPA E1-15 (AWPA, 2015). Para *S. macrophylla* únicamente la concentración de 3% satisface los niveles de riesgo 1, 2 y 3. En el caso de *A. inermis* ninguna concentración de azoles y sus retenciones resultantes satisfacen los requerimientos discutidos.

Las retenciones obtenidas *T. mexicana* con concentraciones de azoles de 1%, 2% y 3% son suficientes para satisfacer la cantidad mínima de retención recomendada por la AWPA, para elementos estructurales empleados en interiores, la cual es de $2,72 \text{ kg m}^{-3}$ (AWPA P5-07, 2014). Para el caso de las maderas de *S. macrophylla* y *A. inermis* las

concentraciones de azoles máximas aplicadas de 3% no satisfacen este requisito.

Los resultados anteriores son igualmente aplicables para los criterios de la norma NMX-C-322-ONNCCE-2014 (ONNCCE, 2014). Esta normativa recomienda para el nivel de riesgo R1, correspondiente a madera en interiores de uso no estructural, retenciones de sustancias preservadoras en madera de al menos $2,7 \text{ kg m}^{-3}$. Además, la concentración de azoles $C = 3\%$ en *T. mexicana* alcanza una retención de $8,0 \text{ kg m}^{-3}$ y así cumple con el nivel de riesgo R2 que requiere $6,4 \text{ kg m}^{-3}$ de preservante retenido en la madera.

Densidad

El análisis de varianza de las tres especies indica la no existencia de diferencias significativas entre las densidades obtenidas para los tres concentraciones y el grupo de control. Este resultado se explica de manera gráfica en el comparativo (detallado en la Figura 5) de la densidad en función de la concentración. Las diferencias numéricas entre densidades entre el grupo de control y los tres tratamientos; es decir, las concentraciones de 1%, 2% y 3% (Tabla 1), se explican por la variación natural de la densidad al interior de una especie (Silva et al., 2010) y por el efecto del impregnado con el método baño caliente-frío, procedimiento que modifica temporalmente el contenido de humedad de la madera y su capacidad para retener agua (Sotomayor & Ávila, 2019).

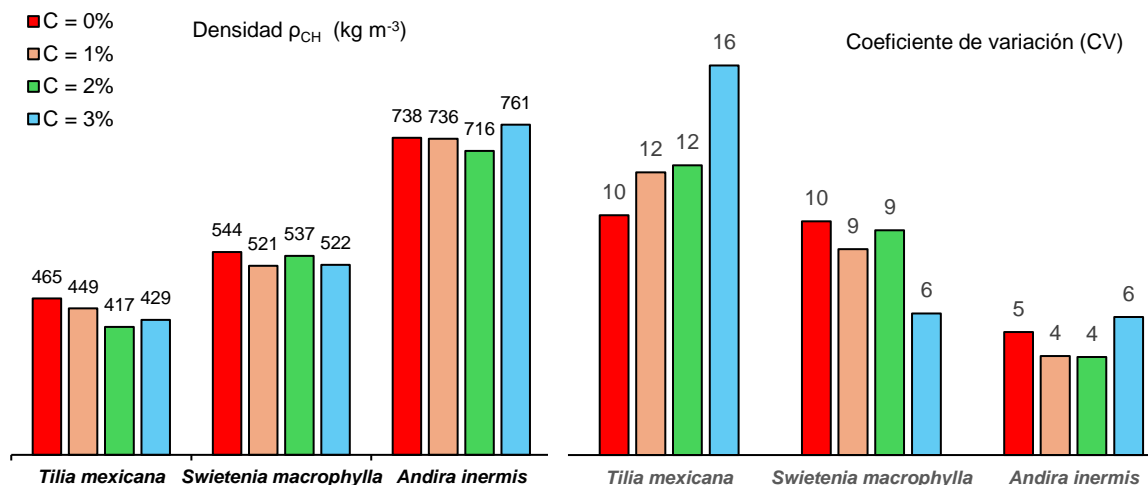


Figura 5. Comparativo de la Densidad (ρ_{CH}) y de su coeficiente de variación (CV) en función de la concentración (C). Datos de la Tabla 1.

Estas diferencias de 8% para *T. mexicana*, y de 4% para *S. macrophylla*, disminuyen a medida que la densidad de la especie aumenta. Como corolario, se observa que la densidad de *A. inermis* aumenta 3%, dado que esta madera exhibe una densidad 46% mayor al promedio de las densidades de *T. mexicana* y *S. macrophylla*. Esto significa que, a mayor densidad de la madera, es menor el efecto de la retención de azoles en la variación de este parámetro. El tratamiento con azoles de la madera de *T. mexicana* incrementa la variabilidad natural de su densidad de un 10% hasta un 16% (Tabla 1 y Figura 5). Para *A. inermis* este aumento es mínimo y va de 5% a 6%. En cambio, el coeficiente de variación de la densidad de *S. macrophylla* disminuye de un 10% hasta un 6%. Así, se observa una variabilidad particular a cada especie y según la concentración de azoles aplicada.

Tiempo de ignición

Los resultados del análisis de varianza del tiempo de ignición señalan que existe diferencias estadísticamente significativas entre las medias de las tres concentraciones y el grupo de control ($P_{(\alpha = 0,05)} < 0,05$). Las magnitudes de estas variaciones se observan en el comparativo del tiempo de ignición relacionado con la concentración de azoles (Figura 6). Los tiempos de ignición se prolongan a medida que las concentraciones de azoles aumentan. Igualmente, se observa que los tiempos de ignición son mayores en función del incremento de las densidades entre especies. Este resultado se combina con el del aumento de las retenciones a medida que las concentraciones aumentan. Además, el incremento de las densidades entre especies es un factor que retrasa el tiempo de ignición. Este argumento se detalla en la dispersión y correlación del tiempo de ignición en función de la densidad (Figura 7) con un coeficiente de determinación medio ($R^2 = 0,68$).

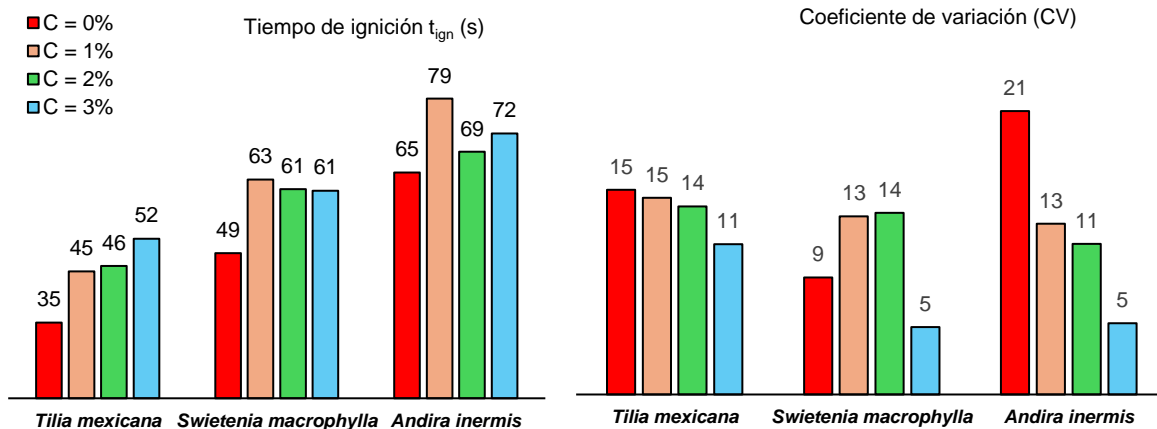


Figura 6. Comparativo del tiempo de ignición (t_{ign}) y de su coeficiente de variación (CV) en función de la concentración (C) con datos de la Tabla 1.

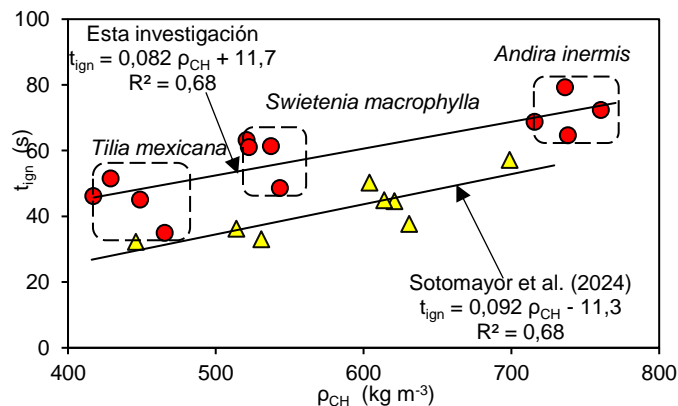


Figura 7. Dispersión y correlación del tiempo de ignición (t_{ign}) en función de la densidad (ρ_{CH}).

El tiempo de ignición correspondiente al grupo de control y a las tres concentraciones aplicadas en *T. mexicana*, *S. macrophylla* y *A. inermis* siguen la misma tendencia que las retenciones de ocho especies tropicales (sin tratamiento de impregnación) reportadas en la bibliografía (Tabla 2, Sotomayor et al., 2024) derivadas de pruebas de reacción al fuego

similares a las realizadas en la presente investigación. Los tiempos de ignición se agrupan de acuerdo con las retenciones de *T. mexicana*, *S. macrophylla* y *A. inermis* (Figura 7). En ambas correlaciones, la densidad explica el aumento del tiempo de ignición con un 68% de probabilidad ($R^2 = 0,68$).

Tabla 2. Densidad, tiempo de ignición y pérdida de masa reportados en Sotomayor et al. (2024).

	Especies	ρ_{CH} (kg m ⁻³)	t_{ign} (s)	Δm (%)
1	<i>Cupressus lindleyi</i>	446	32	23
2	<i>Cedrela odorata</i>	514	36	22
3	<i>Swietenia macrophylla</i>	531	33	21
4	<i>Tabebuia donnell-smithii</i>	604	50	17
5	<i>Fraxinus uhdei</i>	621	45	22
6	<i>Fagus mexicana</i>	631	38	22
7	<i>Dalbergia palo-escrito</i>	614	45	27
8	<i>Guazuma ulmifolia</i>	699	57	17

ρ_{CH} = Densidad; t_{ign} = Tiempo de ignición; Δm = Pérdida de masa.

El comportamiento al fuego de la madera depende de su densidad, contenido de humedad, permeabilidad y de la especie, así como de las condiciones de exposición: orientación, tamaño de la probeta, dirección de la fibra, temperatura y presencia de oxígeno (Bartlett et al., 2019). Así, el coeficiente de variación del tiempo de ignición de *T. mexicana*, *S. macrophylla* y *A. inermis* disminuye cuando la concentración de azoles aumenta. A partir del coeficiente de variación del grupo de control, correspondiente a la no impregnación $C = 0\%$, para *T. mexicana* disminuye de 15% a 11%; para *S. macrophylla* la reducción va de 9% a 5%; y para *A. inermis* se observa una disminución del coeficiente de variación de 21% a 5% (Tabla 1, Figura 6). Caso particular es el de *S. macrophylla* cuyas concentraciones de azoles $C = 1\%$ y $C = 2\%$ incrementan la variabilidad del tiempo de ignición.

Pérdida de masa

Factores como la permeabilidad, la anatomía, contenido de humedad y composición química afectan a la velocidad de combustión de la madera. Sin embargo, la densidad se reconoce como el factor principal que

determina la velocidad de combustión. Generalmente, las maderas más densas tienen una combustión más lenta (Pinto et al., 2016). Esta propuesta coincide con las conclusiones de Ragan et al. (2016) respecto a la dependencia de la pérdida de masa de la composición química de la madera y de su densidad.

No obstante que es difícil de aplicar resultados experimentales producidos en condiciones de laboratorio en la conformación de criterios de seguridad en caso de incendio, hay evidencia empírica de que los valores obtenidos de los ensayos de resistencia al fuego en condiciones de laboratorio se correlacionan con los resultados de los incendios a gran escala (Babrauskas, 2005; Chung, 2010; Xu et al., 2015). A manera de ilustración de los resultados, la Figura 8 muestra la geometría de las probetas de *T. mexicana*, *S. macrophylla* y *A. inermis* después de las pruebas de exposición al fuego una vez eliminada la zona carbonizada. La pérdida de masa calculada es resultado de la reducción de la sección transversal de la probeta en el área que estuvo expuesta al fuego.

Artículos

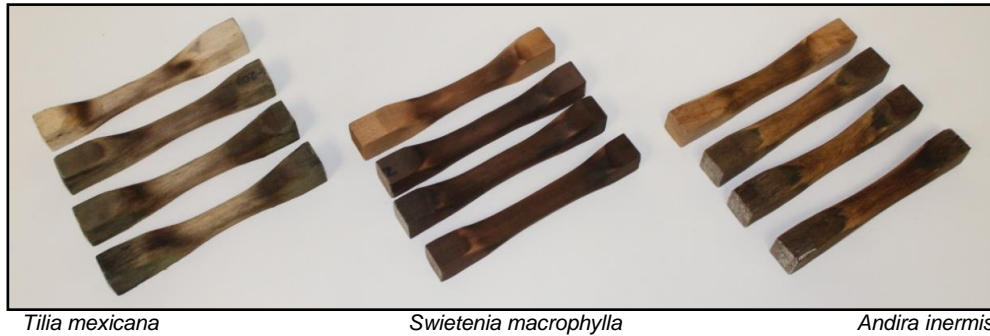


Figura 8. Geometría de las probetas después de las pruebas de exposición al fuego. Concentración de azoles de arriba hacia abajo: C = 0% (control), C = 1%, C = 2% y C = 3%.

Para las maderas de *T. mexicana* y *S. macrophylla* la pérdida de masa disminuye a medida que la concentración de azoles aumenta (Tabla 1 y Figura 9). Para *A. inermis* la pérdida de masa se incrementa para las concentraciones C = 1% y C = 2% y disminuye para C = 3%; sin embargo, su magnitud en promedio es 36% menor. Este resultado se explica por la baja correlación ($R^2 = 0,14$) entre la pérdida de masa y la densidad (Figura 10). De manera similar a la tendencia del tiempo de ignición, las pérdidas de masa se

agrupan de acuerdo con las retenciones. Para situar los resultados de esta investigación, en la Figura 10 se presenta la correlación entre las pérdidas de masa de ocho maderas enlistadas en la Tabla 2 (Sotomayor et al., 2024) respecto a su densidad. En este caso, la tendencia es similar a la de esta investigación; es decir, la pérdida de masa disminuye cuando la densidad de la madera se incrementa. La correlación entre estas dos variables es fuerte ($R^2 = 0,79$).

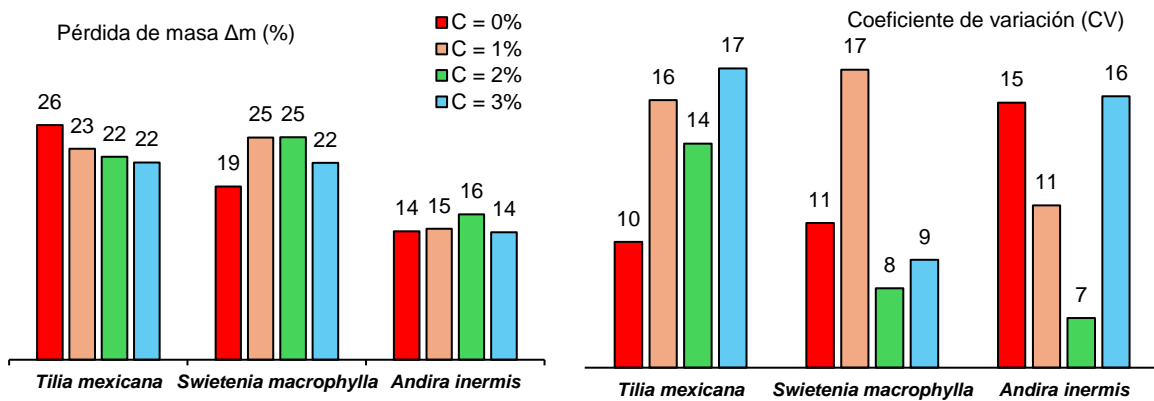


Figura 9. Comparativo de la pérdida de masa (Δm) y de su coeficiente de variación (CV) en función de la concentración (C) con datos de la Tabla 1.

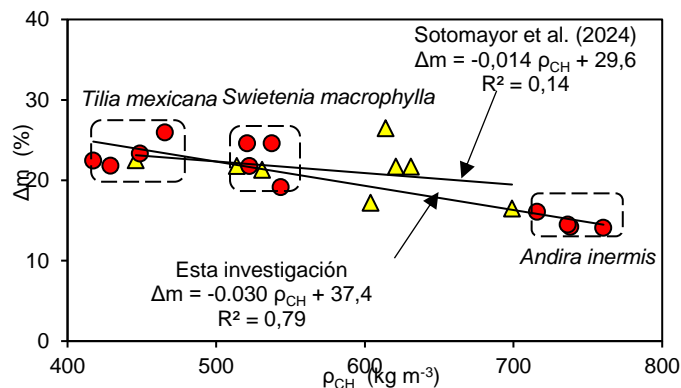


Figura 10. Dispersión y correlación de la pérdida de masa (Δm) en función de la densidad (ρ_{CH}).

Los resultados de investigaciones realizadas con protocolos experimentales similares, como es el caso de esta investigación y el de Sotomayor et al. (2024), pueden mostrar tendencias comparables. Empero, la explicación cuantitativa, representada por las correlaciones de estas tendencias, es particular a cada estudio. La pérdida de masa en los datos de Sotomayor et al. (2024) indica una correlación muy baja con respecto a la densidad de la madera (Figura 10).

El tiempo de ignición y la pérdida de masa son parámetros derivados de pruebas de reacción al fuego que pueden explicar el efecto de los azoles como agentes para retardar la combustibilidad de la madera (Lowden & Hull, 2013, Mensah et al., 2023.) En la presente investigación, sus magnitudes son determinadas en condiciones controladas de laboratorio y ensayando probetas de pequeñas dimensiones. Igualmente, las retenciones de azoles en la madera se refieren al tratamiento de impregnación específico a las especies *T. mexicana*, *S. macrophylla* y *A. inermis*. Los resultados son indicadores de la reacción al fuego de estas especies delimitadas por las condiciones experimentales descritas en esta investigación.


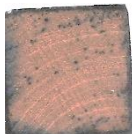


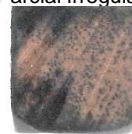
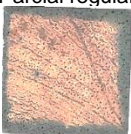
Penetración

Las penetraciones de azoles en la madera de *T. mexicana* con concentraciones de 1%, 2% y 3% indican una difusión total regular del preservante en la sección transversal y un cambio del color natural de la madera (Tabla 3). La norma NMX-C-322-ONNCCE-2014

(ONNCCE, 2014) exige como requisito mínimo de penetración el 100% en piezas de madera con dimensiones máximas de 25 mm en las direcciones radial y/o tangencial de la madera de albura. De aquí, *T. mexicana* satisface este criterio. Por el contrario, *S. macrophylla* y *A. inermis* no lo hacen. Ambas maderas presentan penetraciones parciales e irregulares. En consecuencia, considerando las condiciones experimentales de la presente investigación, la madera de *T. mexicana* se aprecia como una especie permeable a la impregnación con azoles por el método de baño caliente-frío. En cambio, *S. macrophylla* y *A. inermis* son especies menos permeables (Moya et al., 2021).

Estos resultados se relacionan con las diferentes magnitudes de la retención de azoles en cada una de las especies. La retención en *T. mexicana* es en promedio cinco veces mayor que las de *S. macrophylla* y *A. inermis* (Tabla 1 y Figura 3). En el mismo contexto, la penetración explica el coeficiente de variación de la retención dos veces menor de *T. mexicana* en comparación con el promedio de los coeficientes de *S. macrophylla* y *A. inermis*. En el mismo sentido, la penetración de azoles se corresponde con la magnitud del tiempo de ignición. A mayor penetración de sustancia preservante en la sección transversal de una probeta de madera, su tiempo de ignición se difiere (Tabla 1 y Figura 6). Para el caso de la pérdida de masa, en las tres especies estudiadas no se observa una influencia importante de la penetración en sus magnitudes y sus coeficientes de variación (Tabla 1 y Figura 9).

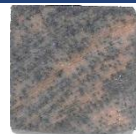
Tabla 3. Comparativo de la penetración de azoles en relación con la concentración.

Concentración (C)	Especies		
	<i>Tilia mexicana</i>	<i>Swietenia macrophylla</i>	<i>Andira inermis</i>
C = 1%	 Total regular	 Parcial irregular	 Parcial regular
C = 2%	 Total regular	 Parcial irregular	 Parcial irregular

C = 3%



Total regular



Parcial irregular



Parcial irregular

Conclusiones

Las pruebas de comportamiento al fuego adecuadas especialmente para este caso de estudio permiten comparar el tiempo de ignición y la pérdida de masa de la madera como efecto de la impregnación con azoles de tres especies tropicales.

Comparativamente con la madera de *T. mexicana*, *S. macrophylla* y *A. inermis* sin impregnación, el tratamiento con azoles en concentraciones de 1%, 2% y 3% se traduce en el aumento del tiempo de ignición y en la disminución de la pérdida de masa, ocasionados ambos por la exposición al fuego de probetas de pequeñas dimensiones y en condiciones controladas de laboratorio. Esta mejora tecnológica amplía las perspectivas de estas especies para su empleo en la industria de la construcción y de productos a base de madera.

Las especies de madera con mayores densidades presentan un mejor comportamiento frente al fuego. Su tiempo de ignición es mayor comparativamente con el de maderas de menor densidad. La pérdida de masa disminuye en proporción con la densidad de la madera. Esta relación es lineal y similar a las de las tendencias reportadas en la bibliografía para otras especies.

Los resultados de esta investigación son concluyentes, pero restringidos para las condiciones experimentales particulares al procedimiento experimental propuesto. Para su aplicación práctica en diseño de estructuras y productos de madera, se recomienda realizar ensayos con protocolos estandarizados y utilizar piezas de madera con dimensiones próximas a las de empleo.

Agradecimientos

A los alumnos de la Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH), por su colaboración en los trabajos de laboratorio. La investigación fue financiada

por la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH.

Referencias

American Wood Protection Association (2014) AWPA P5-07. Standard for Waterborne Preservatives. American Wood Protection Association, Chicago.

American Wood Protection Association (2015) AWPA E1-15. Standard Method for Laboratory Evaluation to Determine Resistance to Subterranean Termites. American Wood Protection Association, Chicago.

Ávila Calderón LEA, Castro Sánchez FJ, Herrera Ferreyra M, Raya González D (2017) Azoles de cobre en la preservación de la madera en México. *Pistas Educativas* 126:31-41.

<https://pistaseducativas.celaya.tecnm.mx/index.php/pistas/article/view/1019>

Babrauskas V (2005) Charring rate of wood as a tool for fire investigations. *Fire Safety Journal* 40(6):528-554. <https://doi.org/10.1016/j.firesaf.2005.05.006>

Bahchevandziev K, Mihajlovski N (2021) Surface retention of polyurethane and acrylic coatings on impregnated spruce wood (*Picea abies* Karst.) and comparison with some wood preservatives. *Baltic Forestry* 27(2):223. <https://doi.org/10.46490/BF223>

Baraúna EEP, Paes JB, Monteiro TC, Moulin JC, Ferreira GL, Silveira AG, Baldin T, Sette Junior CR, Arantes MDC (2020) Influence of impregnation with boron compounds in the physical properties of Eucalyptus wood. *Scientia Forestalis* 48(128):e3383. <https://doi.org/10.18671/scifor.v48n128.09>

Barbero López A, Chibily S, Scheepers G, Grahn T, Venäläinen M, Haapala A (2018) Analysis of Green Wood Preservation Chemicals. *International Journal of Environmental and Ecological Engineering* 12(3):175-181.

<https://doi.org/10.5281/zenodo.1315826>

Bartlett AI, Hadden RM, Bisby LA (2019) A Review of Factors Affecting the Burning Behaviour of Wood for Application to Tall Timber Construction. *Fire Technology* 55:1-49. <https://doi.org/10.1007/s10694-018-0787-4>

Y

Boonmee N, Quintiere JG (2002) Glowing and flaming autoignition of wood. *Proceedings of the Combustion Institute* 29(1):289-296. [https://doi.org/10.1016/S1540-7489\(02\)80039-6](https://doi.org/10.1016/S1540-7489(02)80039-6)

Buchanan A, Östman B (2022) *Fire Safe Use of Wood in Buildings. Global Design Guide.* CRC Press, Boca Raton. <https://doi.org/10.1201/9781003190318>

Cai Y, Ren Z, Li C, Cai T, Yu C, Zeng Q, He S, Li J (2023) The insecticidal activity and mechanism of tebuconazole on *Nilaparvata lugens* (Stål). *Pest Management Science* 79(9):3141-3148. <https://doi.org/10.1002/ps.7493>

Calovi M, Zanardi A, Rossi S (2024) Recent Advances in Bio-Based Wood Protective Systems: A Comprehensive Review. *Applied Sciences* 14:736. <https://doi.org/10.3390/app1402073>

Chung Y (2010) Comparison of combustion properties of native wood species used for fire pots in Korea. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 16(1):15-19. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2010.01.031>

Cordero J, Boshier DH (2003) *Árboles de Centroamérica.* Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba.

Derkyi N (2020) Azoles for Renewable Energy Development and Wood Treatment. In: *Azoles - Synthesis, Properties, Applications and Perspectives.* In: *Azoles - Synthesis, Properties, Applications and Perspectives.* Kuznetsov A (ed). IntechOpen, London. pp. 1-21. <https://doi.org/10.5772/intechopen.93472>

Friquin K (2011) Material properties and external factors influencing the charring rate of solid wood and glue-laminated timber. *Fire and Materials* 35(5):303-327. <https://doi.org/10.1002/fam.1055>

García Ortiz VR, Benítez Rocha G, Martínez Pacheco M, Velázquez Becerra C (2017) Wood preservatives and microbial exudates with antagonistic activity against biological agents. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36(1):56-78. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1704-2>

International Organization for Standardization (2014a) ISO 13061-1:2014. Physical and mechanical properties of wood. Test methods for small clear wood specimens. Part 1: Wood. Determination of moisture content for physical and mechanical tests. International Organization for Standardization, Geneva. <https://www.iso.org/standard/60063.html>

International Organization for Standardization (2014b) ISO 13061-2:2014. Wood - Physical and mechanical properties of wood. Test methods for small clear wood specimens. Part 2: Determination of density for physical and mechanical tests. International Organization for Standardization, Geneva. <https://www.iso.org/standard/60064.html>

Jirouš-Rajković V, Miklečić J (2021) Enhancing Weathering Resistance of Wood—A Review. *Polymers* 13(12):1980. <https://doi.org/10.3390/polym13121980>

Jørgensen LN, Heick TM (2021) Azole Use in Agriculture, Horticulture, and Wood Preservation – Is It Indispensable? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 11:730297. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.730297>

Lee H-M, Son D-W, Lee H-S, Hwang W-J (2015) Influence of Copper Azole Retention Level to Wood Decay. *Journal of the Korean Wood Science Technology* 43(1):112-121. <http://dx.doi.org/DOI:10.5658/WOOD.2015.43.1.112>

Lee D-h, Lee MJ, Son D-W, Park B-D (2006) Adhesive performance of woods treated with alternative preservatives. *Wood Science and Technology* 40:228-236. <https://doi.org/10.1007/s00226-005-0036-7>

Lowden LA, Hull TR (2013) Flammability behaviour of wood and a review of the methods for its reduction. *Fire Science Reviews* 2:4. <https://doi.org/10.1186/2193-0414-2-4>

Mensah RA, Jiang L, Renner JS, Xu Q (2023) Characterisation of the fire behaviour of

wood: From pyrolysis to fire retardant mechanisms. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 148:1407-1422.

<https://doi.org/10.1007/s10973-022-11442-0>

Moya R, Gaitán J, Berrocal A (2021) Guía para la preservación de madera por el método de inmersión – difusión con sales de boro. Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago.

Niklas KJ, Spatz HC (2010) Worldwide correlations of mechanical properties and green wood density. *American Journal of Botany* 97(10):1587-1594.

<http://dx.doi.org/10.3732/ajb.1000150>

Organismo Nacional de Normalización y Certificación de la Construcción y Edificación (ONNCCE) (1999) Norma Mexicana NMX-C-410-ONNCCE-1999. Industria de la construcción. Vivienda de madera. Retención y penetración de sustancias preservadoras en madera. Métodos de prueba. Organismo Nacional de Normalización y Certificación de la Construcción y Edificación, México.

Organismo Nacional de Normalización y Certificación de la Construcción y Edificación (ONNCCE) (2001) Norma Mexicana NMX-C-178-ONNCCE-2001. Industria de la construcción-Preservadores para madera-Clasificación y requisitos. Organismo Nacional de Normalización y Certificación de la Construcción y Edificación, México.

Organismo Nacional de Normalización y Certificación de la Construcción y Edificación (ONNCCE) (2014) NMX-C-322-ONNCCE-2014. Industria de la Construcción. Madera Preservada a presión. Clasificación y Requisitos. Organismo Nacional de Normalización y Certificación de la Construcción y Edificación, México.

Pánek M, Kubovský I, Oberhofnerová E, Štěrbová I, Niemz P, Osvald A, Kačík F (2021) Influence of natural weathering on the ignition and relative burning rate of selected softwoods. *Construction and Building Materials* 304:124615.

<https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2021.124615>

Pereira EE, Mota A, Cabral J, Campos T, Chaves MD, Benigno J (2017) Influence of boron compounds on the physical properties of Eucalyptus sp. wood. *Scientia Forestalis* 45:197-204.

<https://doi.org/10.18671/scifor.v48n128.09>

Pinto EM, Machado GO, Felipetto RPF, Christoforo AL, Lahr FAR, Calil Jr. C (2016) Thermal Degradation and Charring Rate of *Corymbia Citriodora* and *Eucalyptus Grandis* Wood Species. *TOpen Construction and Building Technology Journal* 10(8):450-456.

<https://doi.org/10.2174/187483680161001045>

Q

Presley G, Cappellazzi J, Eastin I (2022) Durability of Thermally Modified Western Hemlock Lumber Against Wood Decay Fungi. *Frontiers in Forests and Global Change* 5:813080.

<https://doi.org/10.3389/ffgc.2022.813080>

Ragan B, Kačíková D, Paulduro M (2016) Influence of physical and chemical characteristics of selected tree species on mass loss and rate of burning after exposure to radiant heating. *Acta Facultatis Xylogologiae Zvolen* (58):121-131.

<https://doi.org/10.17423/afx.2016.58.2.13>

Rendón A, Dorantes F, Mejía S, Alamilla L (2021) Características macroscópicas, propiedades y usos de la madera de especies nativas y exóticas en México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México.

Rocha MA, Landesmann A (2016) Combustion properties of Brazilian natural wood species. *Fire and Materials* (40):219-228. <https://doi.org/10.1002/fam.2281>

Shen D, Xiao R, Fang M, Chow W (2013) Thermal-balanced integral model for pyrolysis and ignition of wood. *Korean Journal of Chemical Engineering* 30(1):228-234.

<https://doi.org/10.1007/s11814-012-0098-9>

Silva Guzmán JA, Fuentes Talavera FJ, Rodríguez Anda R, Torres Andrade PA, Lomelí Ramírez MA, Ramos Quirarte J, Waitkus C, Richter HG (2010) Fichas de propiedades tecnológicas y usos de maderas nativas se México e importadas. Comisión

Artículos

- Nacional Forestal, México.
Simsek H, Baysal E, Yilmaz M, Culha F (2013) Some mechanical properties of wood impregnated with environmentally-friendly boron and copper based chemicals. *Wood Research* (58):495-504.
<https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2010.04.028>
- Sotomayor Castellanos JR, Ávila Calderón LEA (2019) Retención y penetración de sales de Boro en tres maderas Angiospermas: *Spathodea campanulata*, *Fraxinus americana* y *Albizia plurijuga*. *Ciencia y Tecnología UTEQ* 12(2):23-31.
<https://doi.org/10.18779/cyt.v12i2.323>
- Sotomayor Castellanos JR, Ávila Calderón LEA (2021) Reacción al Fuego de Tres Maderas Angiospermas Impregnadas con Sales de Boro. *Revista Tecnológica - Espol* 33(1):14.
<http://www.rte.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/view/818>
- Sotomayor Castellanos JR, Gallegos León G (2018) Reacción al fuego de madera sólida y laminada de *Enterolobium cyclocarpum*, *Tabebuia rosea* y *Juniperus pyriformis*. Estudio comparativo. *Investigación e Ingeniería de la Madera* 14(1):39-78.
https://www.researchgate.net/publication/324830505_Reaccion_al_fuego_de_madera_solid_a_y_laminada_de_Enterolobium_cyclocarpum_Tabebuia_rosea_y_Juniperus_pyriformis_Estudio_comparativo
- Sotomayor Castellanos JR, Adachi K, Makovická Osvaldová L (2024) Reaction to Fire of Eight Species of Densified Mexican Wood. In: Makovická Osvaldová L, Hasburgh LE, Das O (eds). *Wood & Fire Safety 2024*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-031-59177-8_3
- Tamarit Urias JC, López Torres JL (2007) Xilotecología de los principales árboles tropicales de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, México.
- Teng T-J, Mat Arip MN, Sudesh K, Nemoikina A, Jalaludin Z, Ng E-P, Lee H-L (2018) Conventional technology and nanotechnology in wood preservation: A Review. *Bioresources* 13(4):9220-9252.
<https://doi.org/10.15376/biores.13.4.Teng>
- Wegner T, Skog KE, Ince PJ, Michler, CJ (2010) Uses and Desirable Properties of Wood in the 21st Century. *Journal of Forestry* 108(4):165-173.
<https://research.fs.usda.gov/treearch/37439>
- Xu QF, Chen LZ, Harries KA, Zhang FW, Liu Q, Feng JH (2015) Combustion and charring properties of five common constructional wood species from cone calorimeter tests. *Construction and Building Materials* (96):416-427.
<https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2015.08.062>
- Yu C, Crump D, Brown V (2009) Exposure Risk Assessment of the Emissions of Wood Preservative Chemicals in Indoor Environments. *Clean* 37(6):466-474.
<https://doi.org/10.1002/clean.200900046>
- Yuksel M, Baysal E, Toker H (2014) Combustion characteristics of oriental beech wood impregnated with commonly used borates. *Wood Research* 59(1):39-50.
<http://www.woodresearch.sk/intro.ph>



www.smbb.com.mx