



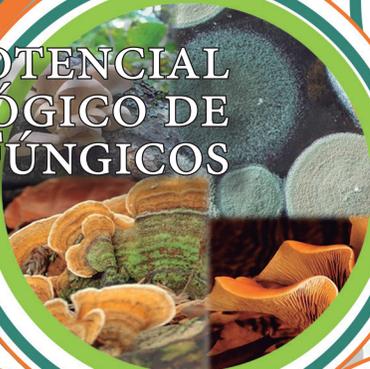
FRONTERA BIOTECNOLÓGICA



EN BUSCA DE LA CURA DEFINITIVA PARA LA DIABETES



FUNCIÓN Y POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LOS VOC'S FÚNGICOS



APLICACIÓN DE LA TURBIDIMETRÍA PARA LA MEJORA DE LA PRUEBA DE ALCOHOL CONVENCIONAL EN LECHE BOVINA



MINIREVIEW: LA CO-DIGESTIÓN ANAERÓBICA



Directorio Institucional

CIBA IPN

IPN

Enrique Fernández Fassnacht

Director General

Julio Gregorio Mendoza Álvarez

Secretario General

Miguel Ángel Álvarez Gómez

Secretario Académico

José Guadalupe Trujillo Ferrara

Secretario de Investigación y Posgrado

Francisco José Plata Olvera

Secretario de Extensión e Integración Social

Mónica Rocío Torres León

Secretaria de Servicios Educativos

Gerardo Quiroz Vieyra

Secretario de Gestión Estratégica

Francisco Javier Anaya Torres

Secretario de Administración

Cuahtémoc Acosta Díaz

Secretario Ejecutivo de la Comisión de Operación
y Fomento de Actividades Académicas

José Luis Ausencio Flores Ruiz

Secretario Ejecutivo del Patronato de Obras e
Instalaciones

David Cuevas García

Abogado General

Jesús Ávila Galinzoga

Presidente del Decanato

Myrna Solís Oba

Directora del CIBA IPN Tlaxcala

Raúl Jacobo Delgado Macuil

Subdirector Académico y de Investigación del CIBA
IPN Tlaxcala

Erik Ocaranza Sánchez

Subdirector de Vinculación del CIBA IPN Tlaxcala

Subdirector de Innovación Tecnológica del CIBA IPN
Tlaxcala

Martha Bibbins Martínez

Editor en Jefe

Gonzalo Pérez Araiza

Soporte Técnico

Pedro Ramírez Calva

Diseño y Diagramación Frontera Biotecnológica

Ismael Sánchez González

Desarrollo Web

Cintillo Legal

FRONTERA BIOTECNOLÓGICA, año 4, número 3, enero - abril 2016, es una publicación cuatrimestral editada por el Instituto Politécnico Nacional a través del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac - Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, México. Tels.: 01-248-48707-65 y 66 Conmutador IPN: 57296000, Ext. 87816. <http://www.revistafronterabiotecnologica.cibatlaxcala.ipn.mx>, Editor responsable: Dra. Martha Dolores Bibbins Martínez. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo del Título No. 04-2015-120313501700-203, otorgado por Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Dra. Martha Dolores Bibbins Martínez, Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac - Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, fecha de última modificación, 28 de abril de 2016.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación. Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización del Instituto Politécnico Nacional.

CONTENIDO

3 MENSAJE EDITORIAL

4 EN BUSCA DE LA CURA DEFINITIVA
CONTRA LA DIABETES

11 FUNCIÓN Y POTENCIAL
BIOTECNOLÓGICO DE LOS VOC'S
FÚNGICOS

15 MINIREVIEW: LA CO-DIGESTIÓN
ANAERÓBICA

25 APLICACIÓN DE LA TURBIDIMETRÍA PARA
LA MEJORA DE LA PRUEBA DE ALCOHOL
CONVENCIONAL EN LECHE BOVINA



MENSAJE EDITORIAL

Estimados lectores,

En esta edición de FRONTERA BIOTECNOLÓGICA, les presentamos cuatro interesantes temáticas en donde se hace evidente la importancia e impacto de la investigación biotecnológica en la solución de diversas problemáticas que aquejan a nuestra sociedad.

En el primer artículo titulado “En busca de la cura definitiva contra la diabetes” los autores nos introducen al origen de esta enfermedad, sus principales causas, los tratamientos actuales y los recientes avances científicos que parecen indicar el camino para encontrar la cura definitiva de la diabetes, enfermedad que de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, es una de las principales causas de muerte en nuestro país.

En el segundo artículo, “Función y Potencial Biotecnológico de los VOC´s Fúngicos” encontraran la relevancia de metabolitos producidos por diversos tipos de hongos, en este caso, los VOC´s ó compuestos orgánicos volátiles. Los autores nos exponen las aplicaciones biotecnológicas de este tipo de compuestos y nos hacen énfasis en el uso de VOC´s para evitar el crecimiento de organismos patógenos, favoreciendo de esta forma la disminución del uso de agentes químicos y de antibióticos, que a largo plazo resultan dañinos para el ambiente y la salud humana.

El tercer artículo, es un mini-review titulado “La Co-Digestión Anaeróbica” el cual nos presenta los principales avances en la investigación orientada a aprovechar los residuos orgánico-biológicos. Este tipo de residuos representan un gran impacto negativo para el ambiente cuando no reciben el tratamiento adecuado, sin embargo por medio de la digestión anaeróbica, pueden ser utilizados como fuentes alternativas de energía pudiéndose producir biogás, así como de fertilizantes no químicos, contribuyendo con esto a disminuir la contaminación del suelo, aire y agua.

Finalmente en el artículo titulado “Evaluación de la prueba de alcohol en leche bovina por turbidimetría” se presentan los resultados de una investigación dirigida a contar con técnicas de control de calidad de la leche más sensibles, eficientes y económicas. Los autores comparan la técnica de alcohol con una técnica óptica (turbidimetría) y concluyen que es factible utilizar técnicas ópticas dado que presentan una sensibilidad adecuada.

Los invitamos a leer y a compartir con otros investigadores, estudiantes, trabajadores y público en general, esta edición tan interesante de FRONTERA BIOTECNOLÓGICA.

“LA TÉCNICA AL SERVICIO DE LA PATRIA”.

Dra. Martha Bibbins Martínez
Editor en Jefe



EN BUSCA DE LA CURA DEFINITIVA CONTRA LA DIABETES

Josefat Gregorio-Jorge¹ y Candy Ramírez-Zavaleta²

¹ CONACYT - Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada del Instituto Politécnico Nacional (CIBA-IPN) - Tlaxcala, México

² Department of Biomolecular Chemistry, School of Medicine, University of Wisconsin-Madison, United States

Resumen

Hace miles de años, el estilo de vida nómada de los seres humanos requería de la búsqueda constante de alimentos. Por ello, en términos evolutivos, los seres humanos estamos diseñados para buscar y consumir alimentos ricos en calorías. En la vida moderna, la escasez de alimentos ya no es un problema. Por si fuera poco, estamos inundados de alimentos ricos en grasas y azúcares, que, combinado con un estilo de vida sedentario, han resultado en una epidemia de obesidad y otros problemas relacionados, como la diabetes, las enfermedades cardíacas y el cáncer. A pesar de que existe información acerca de que el ejercicio y la restricción calórica ayudan a prevenir y tratar la diabetes, la epidemia de obesidad y diabetes sigue creciendo y se necesitan nuevos medicamentos para tratar este problema. Descubrimientos recientes parecen muy prometedores sobre una solución al problema de la diabetes, aunque es necesario más investigación para encontrar una cura definitiva.

Palabras clave: diabetes, insulina, páncreas, células troncales, células beta.

La diabetes es un desorden del metabolismo

En condiciones normales, el consumo de los alimentos y su posterior digestión en el tracto digestivo provoca un aumento en los niveles de azúcar (glucosa) en la sangre. Para contrarrestar este aumento de azúcar en la sangre, el páncreas produce una hormona llamada insulina que transporta el azúcar al interior de las células del cuerpo para usarlo como fuente de energía. En pocas palabras, la insulina es la llave que permite el paso de la glucosa de la sangre a las células, y como consecuencia los niveles de azúcar en la sangre regresan a sus rangos normales (Figura 1). Contrariamente, cuando los niveles de azúcar en la sangre son muy bajos, por ejemplo, debido a la falta de consumo de alimentos, el páncreas produce glucagón, una hormona que hace que el hígado libere azúcar hacia el torrente sanguíneo para compensar los bajos niveles de azúcar en la sangre (1, 2).

En las personas que padecen diabetes, los niveles de azúcar en la sangre se mantienen elevados, incluso si no han consumido alimentos. Estos niveles elevados de azúcar en la sangre se deben a que la insulina es poca, nula o de mala calidad. Esta condición representa un

desarrollar diabetes tipo 2 en los años subsecuentes (1).

La diabetes en números

En 2014 la prevalencia mundial de la diabetes fue del 9% entre los adultos mayores de 18 años. Tan solo en el 2012 fallecieron 1.5 millones de personas como consecuencia directa de la diabetes. De esta cifra, más del 80% de las muertes se registró en países de ingresos bajos y medios (3), y de acuerdo a las predicciones de la Organización Mundial de la Salud, la diabetes será la séptima causa de mortalidad en el 2030 (4).

México es un país profundamente afectado por la diabetes. Según datos derivados de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2012, el 9.2% de la población adulta en México (aproximadamente 6.4 millones de personas) ha sido diagnosticada con diabetes. No obstante, esta situación es más preocupante si se considera que existen personas diabéticas que aún no han sido diagnosticadas y que incrementarían considerablemente las estimaciones actuales. En cuanto a la mortalidad por diabetes, de acuerdo con datos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), en 2011 este padecimiento fue responsable del 13.7 % de las defunciones, lo que la situó como la primera causa de mortalidad en el país. Recientemente, en 2014 se presentaron 80,788 muertes por diabetes en México, es decir, una tasa de 69.8 por cada 100,000 habitantes (5). La mortalidad por diabetes tipo I es muy baja, mientras que la mortalidad por la diabetes tipo II es muy alta (Figura 2). Llama la atención que las muertes ocasionadas por la diabetes tipo II sea tan alta, considerando que esta enfermedad se relaciona con el estilo de vida y se puede prevenir.

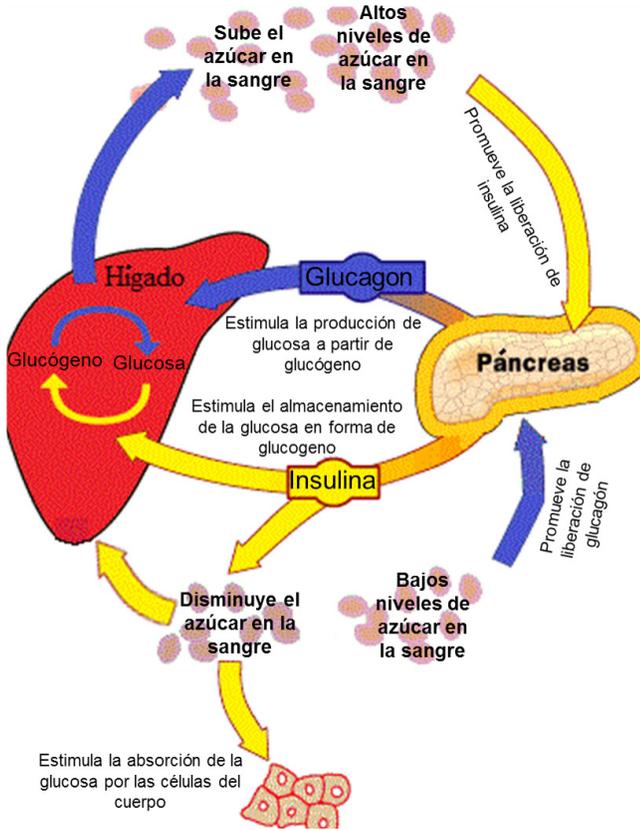


Figura 1. El páncreas controla los niveles de azúcar en la sangre. El páncreas produce insulina en respuesta a los altos niveles de azúcar en la sangre, mientras que en condiciones de bajos niveles de azúcar secreta glucagón. Modificado de Shatsky, R. 2011 (2).

riesgo a la salud, ya sea de forma inmediata o a largo plazo. La ceguera, el daño renal y al sistema nervioso, son algunas consecuencias graves de la diabetes. La diabetes también puede causar enfermedades cardíacas, derrame cerebral y en algunos casos la amputación de extremidades. Los tipos más comunes de diabetes son el tipo I, el tipo 2 y la prediabetes. La diabetes tipo I se debe a que el páncreas es atacado por el sistema inmune y se merma la producción de insulina, mientras que la diabetes tipo 2 está asociada a la obesidad y la falta de actividad física. En la prediabetes los niveles de azúcar en la sangre son más altos que lo normal, pero no lo suficientemente elevados para llamarla diabetes. Es el caso de la diabetes gestacional que se presenta durante el embarazo y que incrementa el riesgo de

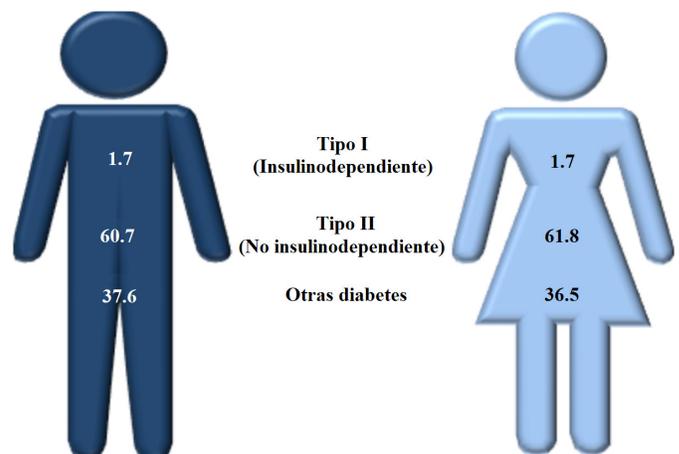


Figura 2. Distribución de muertes por tipo de diabetes según sexo. Número de muertes por cada 100 defunciones registradas. Fuente: INEGI 2013 (6).

La obesidad es la principal causa de la diabetes

El desarrollo de la diabetes en una persona depende de factores genéticos, pero también de otros factores como el estilo de vida o los factores ambientales. Entre los factores ambientales se encuentran las infecciones virales o la exposición a toxinas. El factor de riesgo más importante para desarrollar diabetes es padecer sobrepeso u obesidad. La obesidad es una enfermedad que deriva de muchos factores genéticos, sociales y ambientales, así como de los estilos de vida que se adoptan y que están determinados por las condiciones sociales y económicas (7). La obesidad se caracteriza por la acumulación de grasa corporal y como consecuencia un incremento en el peso. A nivel mundial, México ocupa el primer lugar en obesidad infantil y el segundo lugar en obesidad de adultos (7). De acuerdo a los datos del INEGI, hace sólo cuatro décadas la desnutrición y las enfermedades infecciosas eran los mayores problemas de salud pública en México. Actualmente, la obesidad, la diabetes, las enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades crónicas no transmisibles son los mayores problemas en materia de salud. De 1980 a 2013, el número de muertes por casos de diabetes en México se ha incrementado considerablemente, y de ser la novena causa de mortalidad en 1980, se convirtió en la tercera en 1997 y la primera en 2013 (7, 8).

¿Cómo se trata la diabetes actualmente?

El control de azúcar en la sangre es el principal objetivo del tratamiento de la diabetes. Este control ayuda a prevenir las complicaciones de la enfermedad. La diabetes tipo 1 se trata con inyecciones de insulina, así como con cambios en la dieta y el ejercicio. Por su parte, la diabetes de tipo 2 se puede tratar con inyecciones de insulina, o bien con medicamentos no relacionados a la insulina, así como con la reducción de peso y cambios en la dieta. Los medicamentos no relacionados a la insulina ayudan a mantener los niveles normales de azúcar en la sangre de diferentes maneras, por ejemplo, estimulando la producción de insulina en el páncreas, disminuyendo la absorción de los azúcares en el intestino, incrementando la capacidad del cuerpo para usar eficientemente la insulina, disminuyendo la liberación de azúcar a través del hígado, o aumentando la eliminación de la glucosa a través de la orina (9).

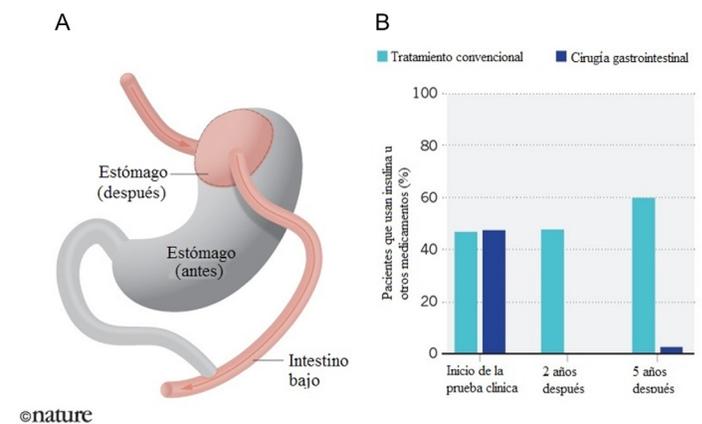
Nuevas alternativas para combatir la diabetes

En la actualidad, las personas con diabetes están sometidas continuamente a inyecciones dolorosas

de insulina para controlar la enfermedad. Si bien este enfoque ha mejorado la calidad de vida de las personas diabéticas durante el último medio siglo, son procedimientos invasivos, desgastantes y costosos.

Investigadores de la Universidad de Carolina del Norte en Estados Unidos han desarrollado un parche de insulina inteligente que evitaría las tediosas y dolorosas inyecciones de insulina (10). El parche funciona como un páncreas artificial, ya que puede detectar y nivelar automáticamente los niveles de azúcar en la sangre. Dicho parche es un cuadrado delgado hecho de silicón que contiene más de cien micro-agujas. Cada micro-aguja contiene insulina y un detector que mide los niveles de azúcar en la sangre. Cuando los niveles de azúcar en la sangre empiezan a subir, las agujas diminutas suministran la dosis necesaria de insulina de forma rápida y sin dolor. Hasta ahora el parche sólo se ha probado en ratones con resultados muy prometedores, ya que mostró la capacidad de disminuir los niveles de azúcar en sangre durante un máximo de nueve horas. Los investigadores esperan que algún día, las inyecciones de insulina sean cosa del pasado.

Otro tratamiento novedoso que sugieren varios especialistas alrededor del mundo es la cirugía del estómago o el intestino. Aunque suena totalmente radical y diferente a los tratamientos convencionales, múltiples ensayos clínicos durante los últimos 100 años demuestran que la cirugía gastrointestinal puede mejorar los niveles de azúcar en la sangre con más eficacia que cualquier intervención farmacológica o cambios de estilo de vida (Figura 3) (11).



©nature

Figura 3. La cirugía gastrointestinal mejora la salud de los diabéticos. El estómago es reducido al tamaño de una bolsa pequeña y se conecta directamente al intestino (A). En una prueba clínica, los pacientes con cirugía gastrointestinal no requirieron el uso de insulina u otros medicamentos después de un seguimiento por cinco años (B). Modificada de Mingrone, G. et al. 2015 (11) y Rubino, F. 2016 (12).

Los efectos benéficos de esta cirugía son varios, ya que además de reducir la mortalidad relacionada con la diabetes, también reduce los ataques cardíacos y los derrames cerebrovasculares. Esta nueva opción para tratar la diabetes ha surgido después de casi un siglo de observaciones clínicas y aunque no todas las personas diabéticas son candidatas a este tipo de tratamiento, nos obliga a ver la enfermedad con otros ojos y revitaliza la esperanza de encontrar una cura en un futuro no muy lejano (12; 13).

Por último, avances recientes en el campo de las células troncales han reavivado la esperanza de encontrar una cura para la diabetes. Estos han sido posibles gracias al entendimiento de los componentes celulares del páncreas. Por ejemplo, se sabe que las células del páncreas se dividen en células alfa y células beta. Las células alfa producen glucagón, mientras que las células beta son las encargadas de producir la insulina. Con este conocimiento, en el laboratorio ya se han podido crear células muy parecidas a las células beta del páncreas, aunque han fallado en comportarse como células beta reales al ser trasplantadas en ratones que padecen diabetes. No obstante, un nuevo descubrimiento en el Instituto Salk de Estados Unidos ha cambiado el panorama y parece indicar el camino hacia una posible cura de la diabetes (14).

Las células troncales: hacia una cura definitiva para la diabetes

Uno de los grandes objetivos que se persigue en medicina es el uso de las células del propio paciente para corregir un defecto en cualquier órgano o tejido. En este sentido, las células troncales ofrecen una solución promisoriosa por tener la capacidad de convertirse en diversos tipos celulares, incluyendo las células que forman al páncreas. La ventaja de usar las células del propio paciente es que el cuerpo no rechaza el nuevo tejido y se evita la necesidad de fármacos inmunosupresores. Previamente, varios laboratorios en el mundo habían producido células beta a partir de células troncales. Sin embargo, tales células se comportaban en un 90% como las células beta del páncreas. En términos funcionales, un 90% no es suficiente según la opinión del Dr. Evans, un biólogo molecular del Instituto Salk (15). De hecho, una de las fallas de las células beta generadas a partir de las células troncales es que no son capaces de producir insulina cuando se las expone a altos niveles de azúcar. La producción de insulina en respuesta a altos niveles

de azúcar en la sangre es una característica propia de las células beta maduras. La maduración de las células beta ocurre después del nacimiento y es un paso clave para regular los niveles de azúcar en la sangre (16). La transición de la etapa de lactancia al consumo de alimentos ricos en carbohidratos es una de las señales para la maduración de las células beta del páncreas. No obstante, se desconocían los detalles de los mecanismos moleculares involucrados durante este proceso de maduración de las células beta.

En el laboratorio del Dr. Evans se ha descubierto la clave para que las células beta producidas a partir de células troncales se comporten en un 100% como las células beta del páncreas (17). El Dr. Evans y su equipo monitorearon la maduración de las células beta de ratones e identificaron un gen clave para este proceso. Al aplicar este conocimiento a las células beta casi funcionales generadas a partir de células troncales, se encontró que dicho gen enciende la maquinaria para que las células beta casi funcionales adquieran la capacidad de detectar los niveles elevados de azúcar y liberar insulina (Figura 4). Sorprendentemente, cuando

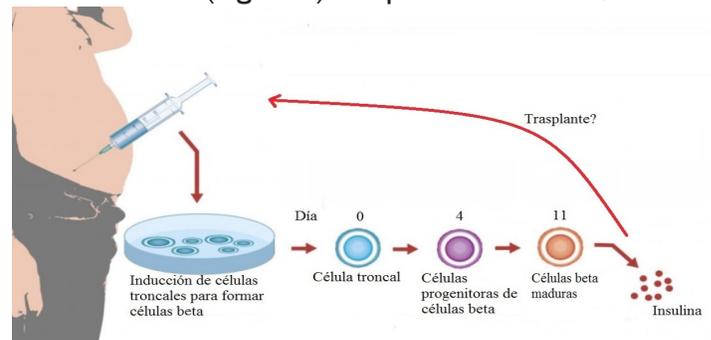


Figura 4. Formación de células beta a partir de células troncales. Las células troncales provenientes del paciente con diabetes se incuban en condiciones propicias en el laboratorio para la formación de células beta maduras. Posteriormente, estas células maduras se implantan en el páncreas del paciente para revertir la enfermedad. Modificada de Saxena, P. et al. 2016 (18).

estas células se trasplantaron en ratones con diabetes, los niveles de glucosa volvieron a los niveles normales. Aunque los experimentos hasta ahora han sido en roedores, los resultados indican que es posible revertir la diabetes mediante el trasplante de células beta modificadas provenientes del mismo individuo, por lo que ya se está planeando realizar pruebas en primates. Los primates desarrollan diabetes de una manera muy similar a los seres humanos, por lo que, si funciona en los primates, la probabilidad de que funcione en humanos es muy alta (15). Si esta estrategia funciona, algún día se podrán reemplazar las tediosas inyecciones de insulina con una inyección de células.

Conclusión

La búsqueda de una cura definitiva contra la diabetes lleva casi 100 años desde que se descubrió, en 1922, que la insulina era la clave para regular los niveles de azúcar en la sangre. Sin embargo, la diabetes es una enfermedad compleja y requiere de un enfoque multidisciplinario para la generación de conocimiento suficiente que ayude a diagnosticar oportunamente y prevenir la enfermedad. Y lo más importante, si la enfermedad ya está presente, lo ideal sería revertir la enfermedad. Los recientes avances científicos parecen indicar el camino para encontrar la cura definitiva contra la diabetes. Ya sea usar un parche que simula el páncreas, someterse a una cirugía gastrointestinal o recibir células propias, la idea es la misma; es decir, que las personas diabéticas se independicen de la necesidad del suministro diario de insulina.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kharroubi, A.T., and Darwish, H.M. 2015. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J. Diabetes.* 6(6): 850–867.
2. Shatsky, R. 2011. Type II diabetes: a beginner's guide. House call, M.D. Available from www.myhousecallmd.com/tag/glucose-control/ [fecha de revisión 23 Junio 2010].
3. World Health Organization. 2014. Global status report on noncommunicable diseases 2014 Geneva. 1-280.
4. Mathers, C.D., and Loncar, D. 2006. Projections of Global Mortality and Burden of Disease from 2002 to 2030. *PLoS Med.* 3(11): e442.

THOMSON REUTERS ES EL PROVEEDOR LÍDER MUNDIAL DE SOLUCIONES E INFORMACIÓN INTELIGENTE PARA EMPRESAS Y PROFESIONALES.

Combinamos experiencia en la industria y tecnologías innovadoras para suministrar información esencial para los tomadores de decisiones.

Web of Science™ — La base de datos de indexación de la investigación científica de todas las áreas de conocimiento líder en el mundo.

EndNote® — Herramienta para administrar y organizar su investigación. Gestor de referencias y creación de bibliografía; práctico y sencillo.

InCites™ — Una vista de 360° del desempeño investigativo de su institución. Métricas sobre producción, financiamiento y reputación.



<http://ip-science.thomsonreuters.com/>



THOMSON REUTERS

5. Fundación IDEA, A.C. 2014. ¿Cómo vamos con la diabetes?. Estado de la política pública. 1-62.

6. INEGI. 2013. Estadísticas a propósito del día mundial de la diabetes. 1-18. Available from fmdiabetes.org/estadisticas-diabetes-inegi-2013/ [fecha de revisión 14 Noviembre 2014].

7. Rivera-Dommarco, J.A., Velasco Bernal, A., Hernández-Ávila, M., Aguilar-Salinas, C.A., M., Vadillo-Ortega, F., and Murayama-Rendón, C. 2013. Obesidad en México: recomendaciones para una política de Estado. 1-536.

8. Aguirre Botello, M. 2016. México, principales causas de decesos 1938-2016. México México. Available from www.mexicomaxico.org/Voto/MortalidadCausas.htm [fecha de revisión Diciembre 2015]

9. American Diabetes Association. 2010. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 33(Suppl 1): S62–S69.

10. Yu, J., Zhang, Y., Ye, Y., DiSanto, R., Sun, W., Ranson, D., Ligler, F.S., Buse, J.B., and Gu, Z. 2015. Microneedle-array patches loaded with hypoxia-sensitive vesicles provide fast glucose-responsive insulin delivery. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 112(27): 8260–8265.

11. Mingrone, G., Panunzi, S., De Gaetano, A., Guidone, C., Iaconelli, A., Nanni, G., Castagneto, M., Bornstein, S., and Rubino, F. 2015. Bariatric-metabolic surgery versus conventional medical treatment in obese patients with type 2 diabetes: 5 year follow-up of an open-label, single-centre, randomised controlled trial. *Lancet*. 386(9997):964-73.

12. Rubino, F. 2016. Medical research: time to think

differently about diabetes. *Nature*. 533(7604):459-61.

13. Rubino, F., Nathan, D.M., Eckel, R.H., Schauer, P.R., Alberti, K.G., Zimmet, P.Z., Del Prato, S., Ji, L., Sadikot, S.M., Herman, W.H., Amiel, S.A., Kaplan, L.M., Taroncher-Oldenburg, G., and Cummings, D.E. 2016. Metabolic surgery in the treatment algorithm for type 2 diabetes: a joint statement by international diabetes organizations. *Diabetes Care*. 39(6):861-77.

14. Shirakawa, J., and Kulkarni, R.N. 2016. ERRγ-A new player in β cell maturation. *Cell Metab*. 23(5):765-7.

15. Intagliata, C. 2016. Transforming stem cells into diabetes beaters. *Scientific American*. Available from scientificamerican.com/podcast/episode/transforming-stem-cells-into-diabetes-beaters/ [fecha de revisión 13 Abril 2016].

16. Otonkoski, T., Andersson, S., Knip, M., and Simell, O. 1988. Maturation of insulin response to glucose during human fetal and neonatal development. Studies with perfusion of pancreatic isletlike cell clusters. *Diabetes*. 37(3):286-91.

17. Yoshihara, E., Wei, Z., Lin, C.S., Fang, S., Ahmadian, M., Kida, Y., Tseng, T., Dai, Y., Yu, R.T., Liddle, C., Atkins, A.R., Downes, M., and Evans, R.M. 2016. ERRγ is required for the metabolic maturation of therapeutically functional glucose-responsive β cells. *Cell Metab*. 23(4):622-34.

18. Saxena, P., Heng, B.C., Bai, P., Folcher, M., Zulewski, H., and Fussenegger, M. 2016. A programmable synthetic lineage-control network that differentiates human iPSCs into glucose-sensitive insulin-secreting beta-like cells. *Nat. Commun*. 7:11247.

RYE

TODO PARA SU LABORATORIO

Estándares de Absorción Atómico - Reactivos Químicos y de Alta Pureza - Balanzas - Papel Filtro - Bombas Peristálticas - Vidriería

ATAGO
CORNING
BROOKFIELD
MERCK MILLIPORE
THERMO SCIENTIFIC

SHEL LAB
EPPENDORF
WHATMAN
BECTON DICKINSON
GILSON
FERMONT
THERMO ORION
OHAUS
HACH

01 800 7777 RYE (793)
www.reactivosyequipos.com.mx

Monterrey México Chihuahua Torreón Saltillo Aguascalientes S.L.P Guadalajara Mérida Irapuato y muchas ciudades más!



INSTRUMENTOS CIENTÍFICOS PARA UNA VIDA MEJOR

EQUIPAR, S.A DE C.V. ha sido por más de 70 años un proveedor sólido y confiable de instrumentos científicos y productos técnicos de vanguardia para todo tipo de empresas.

	COLE-PARMER		MASTERFLEX	
BUCHI		PARR		BELLINGHAM + STANLEY JULABO
	BINDER NEW BRUNSWICK		BROOKFIELD OAKTON	
EPPENDORF OHAUS		EQUIPAR MUEBLES SARTORIUS		LABCONCO THERMO ORION

OFICINA CENTRAL

Juan Sánchez Azcona 1447,
Col. Del Valle, Delegación Benito Juárez, C.P. 03100,
México, D.F.
Tel: 52 (55) 54 20 99 01
equipar@equipar.com.mx

SUCURSAL QUERÉTARO

Calle Palma Cariota No. 2021,
Col. Palmares,
Querétaro, Qro.
Tel: (442) 688 1204
sucursalqueretaro@equipar.com.mx

SUCURSAL GUADALAJARA

Av. Del Parque No. 34,
Col. San Andrés C.P. 44810
Guadalajara, Jalisco.
Tel: (33) 3657 3598
ventasguadalajara@equipar.com.mx

www.equipar.com



FUNCIÓN Y POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE LOS VOC'S FÚNGICOS

Thania Soledad Gonzalez Montfort¹, Rocío Pérez y Terrón², Soley Berenice Nava Galicia¹, Martha Dolores Bibbins Martínez^{1*}

¹CIBA - Instituto Politécnico Nacional

²Escuela de Biología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla
solemmont@hotmail.com, rocperez33@hotmail.com, s
oleilng@yahoo.com.mx, mbibbins@ipn.mx*

RESUMEN

En la naturaleza, las interacciones intra- e inter-específicas de los organismos o microorganismos están relacionadas con la producción de sustancias señal que permiten la comunicación entre ellos. Dentro de las comunidades de microorganismos que conforman la rizósfera, la forma de comunicación es a través de la producción de metabolitos secundarios solubles, o volátiles. Estos metabolitos intervienen en la formación de comunidades complejas, asociaciones simbióticas, competencia y/o defensa. Dentro de este tipo de metabolitos se encuentran los Compuestos Orgánicos Volátiles (VOC's), que juegan un papel importante en la producción de olores y sabores característicos. Los VOC's también funcionan como indicadores indirectos de contaminación de productos agrícolas o alimenticios, y actualmente se utilizan como agentes de biocontrol durante la "Micofumigación". Este proceso permite la inhibición del crecimiento y desarrollo de otros hongos y microorganismos patógenos.

Palabras claves: VOC'S, metabolitos secundarios, micofumigación.

ABSTRACT

In nature, intra- and inter-specific interactions are related to the production of signal substances that allow communication between organisms or microorganisms. Within the rhizosphere, the communication between microbial communities is related to the production of soluble or volatile secondary metabolites. These metabolites are involved in the formation of complex communities, symbiotic associations, competition or defense. Within this type of metabolites, the Volatile Organic Compounds (VOC's) play an important role in the production of certain odors and flavors. The VOC's also serve as indirect indicators of contamination of agricultural products and foodstuffs, and they are currently used as biocontrol agents in a process called "Mycofumigation". Such process allows the inhibition of growth and development of fungi and other pathogens.

Key words: VOC'S, secondary metabolites, mycofumigation.

1. INTRODUCCIÓN

En la rizósfera existe una constante comunicación intra- e inter-específica entre las poblaciones de microorganismos (colonias bacterianas y fúngicas) que la componen, así como con las plantas. Estas relaciones son mediadas por moléculas señalizadoras, las cuales pueden dar como resultado la formación de comunidades microbianas complejas o multi-especies, interacciones antagónicas, simbióticas o competitivas. En el pasado se le dio gran importancia al estudio del papel de los metabolitos secundarios solubles con la finalidad de determinar su función dentro de los nichos ecológicos. En un ecosistema terrestre, los hongos juegan un papel muy importante como simbioses, descomponedores o patógenos. La comunicación inter-específica tiene un papel muy importante en la relación estrecha con bacterias, animales y plantas. En este contexto, los compuestos orgánicos volátiles (VOC's) confieren a los microorganismos una vía de comunicación con otras especies que se encuentran dentro y fuera de la rizósfera (Bennet, et. al, 2012; Hung, et. al, 2015).

Muchas especies de hongos son conocidas por su capacidad para emitir bajas concentraciones de sustancias gaseosas, en especial aquellas que generan olores desagradables. lo cual ha llevado al estudio y análisis de los VOC's de hongos (Strobel, et. al, 2001) (Figura 1).

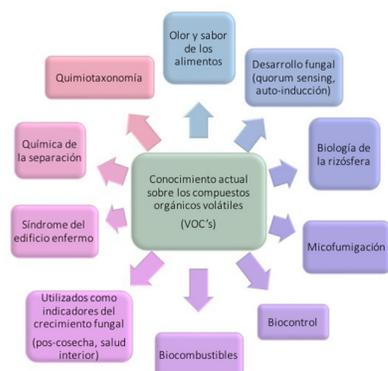


Figura 1. Estudio y usos actuales de los VOC's producidos por hongos
Fuente: Morath, et. al, 2012

Los VOC's son productos químicos que tiene como base una cadena larga de carbonos (C₂₀), presentan bajo peso molecular (~300 g/mol), se evaporan con facilidad a temperatura ambiente, poseen baja solubilidad en agua y, son altamente difusibles en el aire y el suelo.

Dentro de los VOC's fúngicos podemos encontrar predominantemente alcoholes, cetonas, terpenos, aldehídos, alquenos, ácidos, ésteres y bencenoides (Witzany, 2012; Kumar et. al, 2014; Schmidt et. al, 2015). Numerosos factores influyen en la emisión de los VOC's, incluyendo la especie que los produce, el sustrato, la temperatura, la luz, la asociación con otros microorganismos, el clima y los tipos de ecosistemas. El perfil de cada VOC es específico de la especie que lo produce; es decir, es una forma de poder distinguir diferentes hongos que pertenecen a diversos grupos (patogénicos, ectomicorrícicos y saprófitos). De esta forma, los VOC's se utilizan como biomarcadores de una especie en específico y de la etapa de crecimiento del hongo. Por ello, para la obtención de VOC's puros en condiciones de cultivo, es de suma importancia la fuente de carbono, el tiempo de incubación, el pH, la disponibilidad de oxígeno y la temperatura (Lemfack, et. al, 2014).

Estos compuestos son producto del metabolismo primario y secundario del hongo. Durante el metabolismo primario, el organismo descompone los alimentos del medio para obtener los nutrientes necesarios para el mantenimiento de las estructuras y procesos celulares, al tiempo que generan VOC's como subproductos durante el proceso. En cambio, la producción de VOC'S durante el metabolismo secundario es impulsada por la competencia de los recursos en un ambiente pobre de nutrientes (Santo-Pietro, 2006).

Los metabolitos secundarios solubles determinan la distribución y las interacciones inter-específicas dentro de ciertos nichos ecológicos. Los VOC's producidos por hongos y otros microorganismos determinan la formación y regulación de las asociaciones patogénicas o no patogénicas, además de estar involucrados en el reconocimiento de los hospederos, su defensa y competencia. Se ha visto que VOC's producidos por *Cladosporium cladosporioides* potencian y promueven el crecimiento de ciertas plantas. Además, los VOC's fúngicos tienen la capacidad de inducir resistencia sistémica en las plantas, afectar la morfología de la raíz, promover la acumulación de fuentes de reserva en hojas, y en algunos casos, inhibir la germinación (Hung, et. al, 2015) (Figura 2).

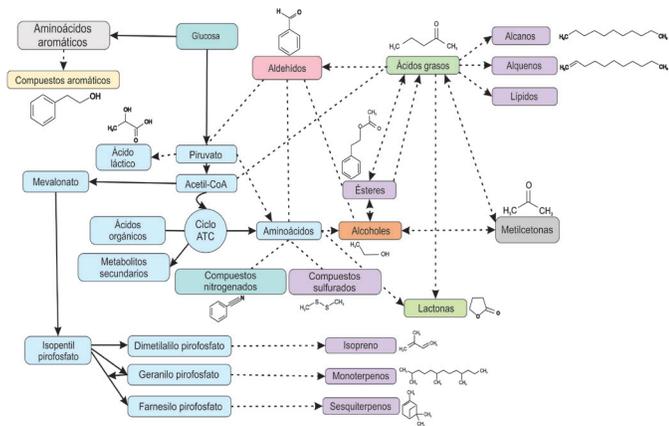


Figura 2: Principales vías metabólicas para la biosíntesis de compuestos orgánicos volátiles microbianos (mVOC's).
Nota: adaptado de Schmidt, et. al, 2015

2. USO BIOTECNOLOÓGICO DE LOS VOC'S FÚNGICOS

La percepción de olores debido a la producción de ciertos VOC's es una forma de saber que existe crecimiento de un hongo. Muchos de estos VOC's contribuyen al olor y sabor deseable de ciertos quesos, embutidos y bebidas. Esto ha conllevado al uso de VOC's como indicadores de control de calidad para ciertos alimentos fermentados. Un ejemplo es el 6-pentil- α -pirona producido por *Trichoderma*, que produce un olor a coco. Estas características permiten utilizar los olores emitidos por algunos VOC's como indicadores indirectos y no invasivos de contaminación en productos alimenticios, así como en productos agrícolas almacenados para el consumo humano y de ganado.

Dentro de los primeros VOC's fúngicos identificados está el 1-octen-3-ol, también llamado octenol. Se ha visto que la producción de este compuesto está bajo control metabólico y depende de la concentración y el estado de desarrollo del hongo. Este compuesto en bajas concentraciones puede favorecer el proceso de conidiación; sin embargo, tiene un efecto antagonico cuando está presente en altas concentraciones (Bennett et. al, 2012).

3. EFECTO DE LOS VOC'S SOBRE LOS HONGOS Y OTROS ORGANISMOS

Los VOC's fúngicos poseen potencial para ser utilizados como agentes de biocontrol, debido a que muestran efectos antagonicos hacia hongos, bacterias, insectos y nematodos. Actualmente, uno de los objetivos principales en el estudio de los VOC's es su uso en la microfumigación es decir, el uso de los VOC's para inhibir el crecimiento y desarrollo de otros organismos patógenos. Esta estrategia permite el control de las enfermedades que afectan a las plantas, tanto en campo como después de la cosecha (Deshmukh, et. al ,2016). Los hongos endófitos son aquellos que viven dentro

de los tejidos de las plantas sin causar daño aparente y son la principal fuente de eliminación de patógenos bacterianos y fúngicos. Este proceso maximiza las posibilidades de supervivencia del hongo patógeno y la colonización una vez que ha germinado (Bennett et. al, 2012; Hung, et. al, 2012).

Uno de los hongos más utilizados para el biocontrol de otros hongos y microorganismos es *Muscodor albus*, que fue aislado del árbol de la canela. Este hongo tiene la capacidad de producir compuestos con actividad antimicrobiana. Cuando *M. albus* crece en condiciones de cultivo puro produce VOC's capaces de matar a un amplio espectro de microorganismos patógenos. Este hongo fue la primera especie donde se describió la microfumigación como un proceso de control biológico (Strobel, et. al, 2001; Alpha, et. al, 2015).

Los hongos basidiomicetos *Oxyporus latemarginatus* y *Pleurotus ostreatus* tienen un efecto negativo en el crecimiento micelial de diferentes hongos (Schmidt, et. al, 2015). Otro uso que se le ha dado a los VOC's es el control de plagas de insectos y nematodos, debido a que al funcionar como semioquímicos, atraen o repelen insectos, además de que ayudan a la segregación de feromonas para estimular o inhibir la ovoposición (Davis, et. al, 2013). Un ejemplo es el hongo *Beauveria bassiana*, usado como agente biocontrol de plagas de insectos por ser entomopatógeno y capaz de producir un biocida eficaz contra los mosquitos (Hung, et al., 2015) (Tabla 1).

Tabla 1. VOC's más comunes producidos por hongos

Compuesto	Estructura	Especie que la produce	Función/olor
Trimetilamina	<chem>CN(C)C</chem>	<i>Geotrichum candidum</i>	Auto-inhibición
1-octen-3-ol/ octenol	<chem>CCCCC(O)C=C</chem>	Mayoría de los hongos	*Producción, inhibición o inducción de la esporulación *Atrayente o repelente de insectos *Olor característico de los hongos
6-pentil- α -pirona	<chem>CCCCC1=CC=CC=C1</chem>	<i>Trichoderma viride</i>	*Fitotoxicidad durante la formación de plántulas *Supresión de plagas durante la germinación *Antibiótico *Olor a coco
3-Metil-acetato	<chem>CC(C)CC(=O)OC</chem>	<i>Muscodor albus</i>	*Inhibición completa de: <i>Pythium ultimum</i> , <i>Rizhoctonia solan</i> , <i>Tapesia yallundae</i> , <i>Xylaria sp.</i> *Olor a plátano
Geosmina	<chem>C1CCC2(C)CC(O)CC2C1</chem>	<i>Botrytis cinerea</i> <i>Penicillium expansum</i>	*Detección de microbios en <i>Drosophila</i> *Olor a tierra mojada

Nota: Modificado de Hung, et. al, 2015 y Morath, et. al, 2012

Estos mecanismos abren una nueva posibilidad para el control de enfermedades en productos agrícolas y alimenticios mediante microfumigación y biofumigación, que no requieren de contacto físico con los productos a tratar (Sharma, et. al, 2014).

4. CONCLUSIONES

La comunicación dentro de la rizosfera, entre las comunidades microbianas y fúngicas, es mediado por moléculas señalizadoras.

Los VOC's actualmente son una herramienta biotecnológica muy importante que permite entender las interacciones que se establecen de forma intra- e inter-específica dentro de diferentes nichos.

Los VOC's forman parte de un sistema adaptativo que ha permitido a los microorganismos la comunicación en diferentes ambientes, así como señales de desarrollo, reproducción, repulsión o atracción de otros organismos.

El uso de VOC's como herramientas de biocontrol permite la disminución del uso de agentes químicos y de antibióticos, que a largo plazo resultan dañinos para el ambiente y la salud humana.



5. REFERENCIAS

Alpha, C.J., Campos, M., Jacobs-Wagner, C., Strobel, S.A. 2015. Mycofumigation by the volatile organic compound producing fungus *Muscodora albus* induces bacterial cell death through DNA damage. *Appl. Environ. Microbiol.* (81):1147-1156.

Bennett, J.W., Hung R., Lee S., Padhi S. 2012.

Fungal and Bacterial Volatile Organic Compounds: An Overview and Their Role as Ecological Signaling Agents. *Fungal Associations*, 2nd Edition, The Mycota IX, Springer-Verlag Berlín, pp. 374-393.

Deshmukh S. K., Misra J. K., Tewari J. P., Tamas P. 2016. *Fungi: Applications and Management Strategies*, CRC Press, Chapter 7, pp. 134-151.

Hock B. 2012. *The Mycota, Fungal Associations IX*, 2nd Edition, Springer-Verlag Berlín, pp 377-390.

Hung R., Lee S., Bennett J. W. 2015 Fungal volatile organic compounds and their role in ecosystems, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (99):3395-3405.

Kumar V. G., Mach R.L., Sreenivasaprasad S. 2014. *Fungal Biomolecules: Sources, Applications and Recent Developments*, Chapter 7, pp 87-99.

Morath S. U., Hung R., Bennett J. W. 2012. Fungal volatile organic compounds: A review with emphasis on their biotechnological potential, *Fungal Biology Reviews* (26): 73-83.

Lemfack M. C., Nickel J., Dunkei M., Preissner R., and Piechulla B. 2014. mVOC: a database of microbial volátiles, *Nuclei Acids Research* (42):744-748.

Santo-Pietro K.A. 2006. Microbial Volatile Organic Compounds (mVOC's) [online], Available from <https://www.emlab.com/s/sampling/env-report-04-2006.html>, fecha de revisión: [Fecha de revisión 2 de Abril de 2016].

Schmidt R., Cordovez V., de Boer W., Raaijmakers J., and Garbeva P. 2015. Mini Review Volatile affairs in microbial interactions, *The ISME Journal* (9):2329-2335.

Sharma N. 2014. *Biological Controls for Preventing Food Deterioration: Strategies for Pre- and Postharvest Management*, John Wiley & Sons. pp 464

Strobel, G.A., Dirkse, E., Sears, J., Markworth, C. 2001. Volatile antimicrobials from *Muscodora albus* a novel endophytic fungus. *Microbiology* (147):2943-2950

Witzany G. 2012. *Biocommunication of Fungi*, Springer pp. 322-326



MINIREVIEW: LA CO-DIGESTIÓN ANAERÓBICA

Vanesa Chicatto Gasperín, Edgar Esteban Bustos Barrera, Lucía Cabrera Baez,
Karim Hassam Montalvo Aguilar, María Myrna Solís Oba*

Instituto Politécnico Nacional Centro de investigación en Biotecnología Aplicada del
ibq.v.chicatto@gmail.com, e.bustos@live.com.mx, lucy_sep@hotmail.com
myrobotlx@yahoo.com.mx

RESUMEN

Una forma en que se pueden aprovechar los residuos orgánicos como son los estiércoles, lodos de plantas de tratamiento de agua, residuos vegetales y residuos domésticos, entre otros, es mediante la digestión anaeróbica. Esta es un proceso de descomposición microbiano donde se obtiene el biogás y el digestato, al cual se le han atribuido propiedades fertilizantes. El presente es una revisión de trabajos donde se ha estudiado la co-digestión anaeróbica, es decir el proceso de digestión anaeróbica pero utilizando mezcla de sustratos, donde se busca la producción de biogás como fuente alterna de energía y el uso del efluente como fertilizante orgánico.

Palabras clave: co-digestión anaeróbica, biogás, digestato, fertilizante, biol

ABSTRACT

We can take advantage of the organic waste such as manure, sewage water treatment plants, vegetable waste and household waste, through anaerobic digestion. This is a microbial decomposition process, getting biogas and digestate, which have been attributed fertilizing properties. This is a review of some reports which has been studied the co-anaerobic digestion, this is the anaerobic digestion but using a mixture of substrates to the production of biogas as an alternative source of energy and the use of effluent as organic fertilizer.

Key words: anaerobic co-digestión, biogás, digestate, fertilizer, biol

1. INTRODUCCION

La digestión anaerobia (DA) es un proceso de descomposición microbiano que se lleva a cabo en ausencia de aire, donde se convierte la materia orgánica en el llamado biogás, el cual está formado principalmente por dióxido de carbono y metano (Krakat, et. al, 2010). Si el biogás contiene más del 45% de metano, es inflamable, por lo que se puede considerar como una fuente de energía limpia y renovable que promete ser una buena sustitución de los combustibles fósiles (Krause, 2008).

La DA es un proceso complejo, el cual se puede dividir en cuatro fases llamadas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. Las fases individuales se llevan a cabo por diferentes tipos de microorganismos, como son bacterias fermentativas y acetogénicas junto con arqueas metanogénicas, que descomponen sucesivamente los productos de los pasos previos. Este proceso depende de varios factores como son el pH, temperatura y tiempo de retención hidráulico (HTR); además de características del sustrato como son sus

propiedades físicas y químicas, su relación C/N y el tamaño de partícula, entre otros (Rasi, et. al, 2007).

Los microorganismos metanógenicos están muy extendidos en la Tierra a pesar de su metabolismo especializado. Así, la producción de metano se lleva a cabo en diferentes ambientes naturales claramente anaeróbicos, como son en los pantanos o zonas encharcadas; también ocurre en el rumen de algunos animales e incluso en lugares como los suelos de bosques o praderas que podrían ser considerados aerobios, pero se favorece este proceso debido a la formación de microambientes anóxicos en el interior de las partículas de suelo (Carrillo, 2003).

Comúnmente la DA se ha llevado a cabo usando estiércoles, sin embargo para favorecer la producción de metano se han utilizado mezclas de sustratos, a esto se le llama co-digestión anaeróbica. En la siguiente sección se describen el efecto de la adición de residuos de diferente naturaleza sobre la producción de biogás y su contenido de metano.



QUIMICA VALANER

A lo largo de nuestra historia, Química Valaner, se ha consolidado como una empresa líder en la introducción y comercialización de tecnologías de amplio reconocimiento en el mundo, siendo nuestra premisa ser un pilar para el alcance de los objetivos de nuestros clientes, donde la disponibilidad de tecnologías de punta, no sean una limitante. Además, siempre responsable de la preservación del medio ambiente, Química Valaner, ha incorporado a México, lo último en tecnologías ecológicas, cuyos desechos no representen un peligro de contaminación.

Actualmente, los equipos, insumos, instrumentos y reactivos que comercializa Química Valaner, cubren tres campos clave de desarrollo tecnológico de nuestro país:

- Investigación y enseñanza Científica básica
- Investigación y diagnóstico molecular
- Diagnóstico clínico

Para Química Valaner, el compromiso de máxima satisfacción de nuestros clientes, es la constante que nos guía, integrando un robusto equipo de asesores y ejecutivos de ventas, con el ideal de brindar un servicio integral y personalizado, acorde a los requerimientos y objetivos de nuestros clientes.



2. CO-DIGESTIÓN ANAERÓBICA

2.1 Co-digestión con residuos de frutas y vegetal

La co-digestión con residuos de frutas y vegetales se ha estudiado, en parte porque son materiales de bajo costo y en gran disponibilidad y por otro lado, porque son fuentes de carbono y azúcares de fácil degradación, por lo que ayudan al crecimiento microbiano. La adición de dichos materiales ha mejorado la digestión anaeróbica, ya sea obteniendo mayor cantidad de biogás y/o metano; además es una forma en que pueden ser tratados estos materiales, que regularmente no se utilizan y pueden ocasionar contaminación si no se disponen adecuadamente. Por ejemplo:

Bouallagui, et. al (2005) utilizaron residuos de frutas y vegetales en un reactor en dos etapas, de esta forma lograron obtener una conversión de 70 a 95 % de materia orgánica a metano. Esto fue posible ya que los sustratos contenían 75% de materia orgánica de fácil degradación (azúcares y hemicelulosa). Adicionalmente está el caso de Callaghan, et. al (2001), ellos realizaron co-digestiones anaerobias utilizando como sustratos excretas de ganado, residuos de frutas y vegetales y estiércol de pollo. Observaron que incrementando la proporción de 20 a 50% de residuos de frutas, se incrementó el rendimiento de metano de 230 a 450 Lkg-1. Sin embargo, para la adición de excreta de pollo en las mismas proporciones se observó disminución en el rendimiento de metano, probablemente debido a la inhibición por amonio. En todos estos casos se obtuvo biogás con una concentración de metano que permite su combustión, es decir, todos estos autores demostraron que los residuos vegetales y de frutas se pueden emplear como fuente alterna de energía.

Hay otros autores que han evaluado la DA de un residuo vegetal en particular, obteniendo resultados similares, que es posible obtener biogás combustible de dichos materiales, como es el caso de Velmurugan y Ramanurjam (2011), quienes probaron la DA de residuos de plátano y col, con un tiempo de retención de 30 días lograron obtener biogás con 65% de metano. La co-digestión anaerobia de pulpa de manzana y residuos de rastros (intestino de cerdos y contenido de estómagos de bovinos) fue investigado por Llaneza, et. al (2009). La concentración de metano en el biogás fue del 77-80%; el mayor rendimiento de metano fue 700 Lkg-1 SV (sólidos volátiles) en un tiempo de retención de 40 días. Además determinaron que arriba de un 10% de pulpa de manzana en el sustrato inhibe a las

bacterias metanogénicas.

Otra fuente importante de generación de residuos de frutas y verduras es en los mercados, mismos que también pueden ser sometidos a DA, como lo demuestran García-Peña, et al (2011), quienes estudiaron el uso de residuos de frutas y verduras que se producen en la central de abastos de la Ciudad de México y encontraron que sometiéndolos a un proceso de DA se lograron obtener 0.42 m³ biogás/kg SV con un contenido de metano del 50%. Otro caso donde se evaluó el uso de los residuos de frutas y vegetales de mercado fueron Scano, et al (2014) donde hicieron la propuesta de someter estos materiales que se generan en un mercado en Sardinia (Italia) a digestión anaeróbica. Obtuvieron una producción específica de biogás de 0.78 m³kg-1 SV y una producción específica de metano de 0.43 m³ kg-1 SV.



Figura 1. El sustrato más usado para la digestión anaeróbica es el estiércol

2.2 Co-digestión con residuos agrícolas

Otro tipo de residuo usado para la co-digestión anaeróbica son los residuos agrícolas, estos se han usado sobre todo para mejorar la relación C/N y alcanzar los niveles sugeridos en la literatura, de 20/1 a 30/1; con esto se ha obtenido también biogás combustible, es decir estos materiales además de que son baratos y se encuentran en grandes cantidades al finalizar los ciclos agrícolas, también representan una interesante fuente alterna de energía. Algunos casos son:

Zhong et al (2012) llevaron a cabo la prueba para evaluar el efectos de la adición de paja de maíz en la digestión de algas azules.

La adición de paja incrementó el contenido y el rendimiento de metano a 61,69% y 325 ml metano g-I SV, en comparación con los 201 ml g-I SV que se obtienen de la digestión usando solamente algas. Wu, et. al (2010) realizaron la co-digestión de estiércol de cerdo con tres fuentes de carbono: rastrojos de maíz, paja de avena y paja de trigo. Los resultados fueron satisfactorios, ya que los residuos aumentaron la producción de biogás y el contenido de metano en el mismo, comparado con el control. Los reactores que contenían rastrojos de maíz presentaron el volumen máximo acumulado de biogás de 81.7 L a los 25 días y el contenido de metano fue de 68%. Otros autores que evaluaron residuos similares fueron Cuetos, et al (2011), quienes estudiaron la co-digestión de estiércol de cerdo y residuos de maíz, colza y residuos de girasol. Encontraron que la adición de estos materiales resultó en un incremento importante en la cantidad de biogás que se produjo, siendo la mayor producción registrada de 3.5 L /día).

Otros materiales vegetales también se han estudiado con el mismo objetivo de evaluar su uso en la DA, como es el caso de Lehtomäki, et al (2007), ellos estudiaron residuos de ensilado de pastos, hojas de remolacha de azúcar y paja de avena con estiércol de vaca. Los mayores rendimientos de metano específicas fueron de 268, 229 y 213 L CH₄ kg-I SV para la digestión de estiércol de vaca con la hierba, hojas de remolacha de azúcar y paja, respectivamente. La adición del 30% de dichos residuos incrementó la producción de metano en 16-65% comparado con la obtenida usando sólo estiércol.

Trujillo, et. al (2005) llevaron a cabo la co-digestión de mezclas de residuos de plantas de jitomate con estiércol de conejo. Concluyeron que la adición de residuos de plantas de jitomate no tiene influencia en la producción de biogás, pero si en la concentración de metano, la adición de estos incrementa los rendimientos de metano. El rendimiento mayor obtenido fue de 47 L de metano kg-I de SV.

2.3 Co-digestión con residuos de comida

Como es sabido, es común que en lugares donde se venden y preparan alimentos hay una considerable generación de residuos, estos se pueden procesar mediante un proceso de DA, reduciendo así la contaminación y atracción de roedores e insectos

que se genera por su almacenamiento y se puede obtener biogás utilizable en las cocinas, algunos casos al respecto son:

Deressa, et al (2015) evaluaron la producción de biogás mediante la co-digestión de estiércol de vaca con diferentes materiales: la mezcla con residuos de alimentos de una cafetería produjo 0.047 L de biogás g-I; usando residuos de frutas y vegetales la producción de biogás fue de 0.037 L/g. Mientras que Wang, et. al



Figura 2. Uso de residuos verdes para alimentar digestores

(2014) investigaron los rendimientos de la digestión anaerobia de los residuos de cocina y de fruta y residuos vegetales. Obtuvieron que con la alimentación de fruta y residuos vegetales presentaron una mayor productividad de metano, que fue de 0.725 L g-I SV y el sistema de escala piloto resultó ser rentable. Por otro lado Guangqing, et. al (2009) analizaron la producción de metano utilizando residuos de comida y residuos verdes. La mayor producción de biogás fue de 778 L kg-I SV para la digestión con residuos de comida, 631 L/Kg SV para los residuos verdes y 716 L kg-I SV para la mezcla. Cerca del 80% de metano se produjo durante los primeros 10 días de la digestión.

3. EL BIOL COMO FERTILIZANTE ORGÁNICO

La DA se ha estudiado ampliamente por la obtención del biogás, sin embargo en fechas recientes se ha dado importancia al subproducto, el digestato, que es el efluente resultante de la DA. Este material consta de dos partes, la parte líquida llamada biol y la parte sólida o biosol. El biol actualmente es usado en la agricultura como fertilizante ya que al haber sufrido un proceso de degradación es un material más estable y con mayor proporción de nitrógeno mineral que el estiércol (Tambone, et. al 2009). Además del incremento de la productividad de las cosechas, son notables los resultados de la utilización del biol como mejorador de las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo (Potschka, 2012). Permite un mejor intercambio catiónico en el suelo, ampliando la disponibilidad de nutrientes, ayudando a mantener la humedad del suelo y la creación de un microclima para las plantas. El uso del biol hace posible regular la alimentación de la planta, los cultivos son fortalecidos y ocurre una mejora del rendimiento agrícola. Permite el uso intensivo del suelo mejorando a la vez la calidad del mismo.

Su composición depende de varios factores, pero en promedio contiene 2 a 3% de Nitrógeno, 1 a 2% de Fósforo, 1% de Potasio (Herrero 2008) y fitorreguladores (Campero, 2012) presentes en cantidades traza (Tabla 1).

Componentes	Cantidad
Ácido indol acético (ng/g)	9.2
Giberelinas (ng/g)	8.1
Purinas (ng/g)	9.8
Tiamina (Vitamina B1) (ng/g)	228
Ácido fólico	7.1
Acido pantoténico	140
Triptofano (ng/g)	28.7
Cianocobalamina (Vit B12) (ng/g)	4.6
Piridoxina (vitamina B6) (ng/g)	8

Tabla 1. Fitorreguladores presentes en el biol

Además el biol es una fuente orgánica de fitorreguladores de crecimiento, como el ácido indol acético (auxina), giberelinas, purinas y las citoquininas, que promueven actividades fisiológicas y estimulan el desarrollo de las plantas (Gomero, 2005); favorecen al enraizamiento (aumentan y fortalecen la base radicular), actúan sobre

el follaje (amplían la base foliar), mejoran la floración y activan el vigor y poder germinativo de las semillas. Traduciéndose todo esto en un aumento significativo de las cosechas y un menor requerimiento de fertilizante mineral u otro que se emplee en el cultivo (Campero, 2012).

A diferencia del biol, las excretas si bien contienen nutrientes que los cultivos pueden utilizar, también poseen altas concentraciones de patógenos, como los coliformes fecales que producen enfermedades infecciosas en los humanos.

Por todo lo anterior, la aplicación del biol se ha hecho como una alternativa a la aplicación de fertilizantes químicos, minimizando costos y reduciendo los daños que se generan al ambiente y la biodiversidad, a la salud humana y animal por el uso de agroquímicos. Según lo indican Bejarano y Méndez (2004) el biol puede ser utilizado en una gran variedad de plantas con ciclos cortos, anuales o perennes; de tipo gramínea, forrajera, frutal, hortalizas o leguminosas y su aplicación puede ser dirigida al follaje, raíz, semilla o al suelo. Algunos estudios al respecto se especifican en las siguientes secciones.



Figura 3. El biol es un buen fertilizante orgánico

3.1 Aplicación del biol para producción de granos

Se sabe que los granos son la base de la alimentación en varios países, por ello el uso del biol se ha probado en la producción de varios de ellos, por ejemplo Haraldsen, et. al (2011) evaluaron un biol obtenido de la co-digestión anaeróbica de residuos orgánicos domésticos y estiércol de vaca en cultivo de cebada.

Lo compararon con un fertilizante comercial, obteniendo con el biol una producción similar que con el fertilizante comercial, pero a menor costo. Otro caso es en el cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), donde el biol fue aplicado al 5-10%; se observó que el biol favoreció en el tiempo de floración, incrementó la producción de frijol y la población bacteriana del suelo asociado a la raíz; en cuanto a la evaluación económica, fue más accesible utilizar este tipo de fertilizante orgánico que el fertilizante químico (Bejarano y Méndez, 2004). Barrios y Siura (2001) evaluaron los efectos de diferentes concentraciones

de biol aplicado foliarmente y al suelo, también en el cultivo de frijol. Obtuvieron buenos rendimientos con la aplicación de biol al 100 % realizando la aplicación al suelo y foliarmente, siendo de 17,869 y 17,972 Kg ha⁻¹ respectivamente. Los autores consideran al biol como una alternativa que podría llegar a ser implementada por el agricultor, ya que en casi todos sus tratamientos lograron obtener un incremento del rendimiento y mejores parámetros de calidad de vaina.

3.2 Aplicación de biol para producción de follaje

Además de la producción de granos, hay varias plantas cuyas hojas o parte aérea son la parte comestible, como es el caso de las hortalizas, por ello el biol también se ha aplicado en el caso de estos vegetales. Albuquerque, et. al (2012) realizaron un análisis de 12 lodos digeridos procedentes de DA de estiércol de cerdo y de vaca con diferentes residuos agroindustriales, para evaluar su uso como fertilizantes debido a su contenido de nitrógeno. Al 1% dos de ellos estimularon el crecimiento vegetal en berro (*Lepidium sativum*) y lechuga (*Lactuca sativa*). Para cultivos de brócoli (*Brassica oleracea*), Manosalvas (2012) utilizó un biol comercial "Biol Biogest Pontecializado", éste fue adicionado con compuestos químicos a diferentes concentraciones; la aplicación del biol favoreció la absorción a nivel foliar y mejoró el desarrollo del cultivo.



Figura 4. Estimulación de la radícula

An advertisement for Bella Edad anti-ageing cream. The background is white with large, stylized pink letters 'B' and 'E'. In the center, two jars of cream are displayed. The jar on the left is labeled 'BELLA EDAD CREMA ANTI-EDAD DE NOCHE CONT. NET. 50 gr'. The jar on the right is labeled 'BELLA EDAD CREMA ANTI-EDAD DE DÍA CONT. NET. 50 gr'. A small butterfly is perched on the right jar. On the left side, the Bella Edad logo (a butterfly) is shown above the text 'BELLA EDAD CREMA ANTI-EDAD' and 'EMPRESA 100% POBLANA'. At the bottom, a purple banner contains the text 'VISÍTANOS' followed by a Facebook icon and 'Bella Edad', and 'CONOCE NUESTROS PRODUCTOS'.

Por otro lado, también es importante estimular la producción de forraje para alimento animal, esto es importante sobre todo porque en algunos casos los alimentos procesados son caros. Para el cultivo de plantas forrajeras también se ha usado el biol con buenos resultados. Algunos casos son los trabajos de Escobar y Ronquillo (2012), en este sentido evaluaron la respuesta a la fertilización orgánica con el uso de biol y potásica inorgánica en pasto "King grass" (*Pennisetum purpureum*). Utilizaron tres dosis de fertilización potásica inorgánica: 0, 165 y 330 y usaron bioles generados a partir de la DA de excretas de vaca y agua potable y biol obtenido a partir de la DA de estiércol de vaca y agua residual. Evaluaron la producción de biomasa y el contenido nutricional del cultivo al final de su ciclo. En cuanto a la altura del tallo, longitud de la hoja y el número de macollas por metro, no encontraron diferencias significativas entre los tratamientos. El número de tallos promedio por macolla que obtuvieron con las diferentes dosis de potásica inorgánica fueron iguales entre sí, y diferente en los tratamientos con biol; siendo con el biol obtenido de DA de estiércol de vaca con agua potable las que mayores números de tallos por macolla registraron. Un estudio similar es el llevado a cabo por Jiménez (2011), el realizó una comparación entre diferentes dosis de fertilizaciones químicas y de biol obtenido a base de DA de estiércol de vaca a concentraciones de 75 y 100%, con el fin de establecer las diferencias que existen entre la producción y los costos, y poder determinar si el uso del biol como fertilizante en pastos es rentable. Obtuvo que el uso de biol al 100% como fertilizante en pastos resulta económicamente rentable; con el biol obtuvo el mayor rendimiento en la producción de materia verde (38562,50 kg ha⁻¹) y seca (5229,08 Corregir). Otro caso es el de Guanopatin (2012), quien realizó un estudio de aplicación foliar de biol a base de DA de estiércol bovino y gallinaza, en cultivo de alfalfa (*Medicago sativa*), utilizando concentraciones de 5 y 10 ml L⁻¹. Los análisis estadísticos registraron como el mejor tratamiento fue el de biol de DA de estiércol de bovino usando 5 ml L⁻¹; con este



se obtuvo mayor altura de planta en todas las parcelas en que se aplicó este tratamiento, así como brotes con mayor número de hojas por rama, e incremento en el rendimiento del cultivo.

El estudio de los efectos del biol se han llevado a cabo también con plantas de mayor tamaño, donde se han reportado mejoras en el desarrollo vegetal, algunos casos son: el de Arguello (2008), quien comparó la acción de diferentes dosis de biol obtenido de la DA de una mezcla que contenía principalmente estiércol de vaca, sobre el crecimiento de mangle (*Avicennia germinans*). Aplicó una fertilización foliar semanal de biol en diferentes concentraciones (10, 30, 50 y 70%), el testigo fue 0% de fertilización y utilizó un testigo químico (fertilizante foliar). Obtuvo diferencia significativa

en sus tratamientos, siendo el biol al 70% el tratamiento en el que se reportó mayor altura, diámetro y emisión foliar promedio. Otro ejemplo es el reportado por Torres (2008), dicho autor evaluó el efecto de la fertilización foliar orgánica en plantas de caoba (*Swietenia macrophylla*) empleando 2 bioles: uno obtenido de la DA de estiércol de vaca, y otro obtenido de la co-digestión anaeróbica de estiércol de vaca con material vegetal de *Salix*

humboldtiana (sauce). Los bioles los aplicó en tres diferentes concentraciones (10, 30 y 70%). Utilizó un control sin aplicación de biol y un tratamiento químico (5 g de urea/litro de agua). Los criterios de evaluación fueron la altura y emisión foliar de las plantas. El análisis estadístico reportó que no hubo diferencias significativas entre los diversos tratamientos, lo que quiere decir que los bioles se pueden usar en sustitución de la urea obteniéndose iguales rendimientos.

3.3 Uso del digestato como medio de cultivo

El digestato por ser una mezcla sólido-líquida de materia orgánica parcialmente degradada, que contiene amonio y otros micro y macro elementos, también se ha utilizado como medio de cultivo para el crecimiento de microorganismos de interés agrícola o para biorefinería. Algunos estudios donde utilizan el digestato con esa finalidad son:

En el estudio realizado por Passanha, et. al (2013), utilizaron el digestato diluido como medio de cultivo para *Cupriavidus necator* con el fin de aumentar la producción de polihidroxialcanoato (PHA), los autores concluyen que la presencia y cantidad de nutrientes (Amonio, K, Mg, Cu, Fe, Ni, sulfatos y fosfatos) en el digestato permite una mayor acumulación de PHA en la bacteria (12 g L⁻¹) comparado con el caldo nutritivo (4.2 g L⁻¹).

Wang, et. al (2010) utilizaron el digestato, en diluciones de 10, 15, 20 y 25% en agua, como medio de cultivo para *Chlorella* sp., con dos objetivos, el primero, la remoción de compuestos como amonio, nitrógeno total y fósforo total del digestato y el segundo para medir la acumulación de ácidos grasos de cadena larga en la micro alga. Los resultados obtenidos de este estudio sugieren una estrategia para el tratamiento del digestato y hacerlo propenso para su uso en suelos y además la posibilidad de ser utilizado como medio de cultivo para micro algas de interés en la bio-refinería, concluyeron que en las diluciones del 20 y 25% la micro alga creció más rápido que en el resto de las diluciones.

Por su parte Srivastava, et. al (2009), probaron un medio para el crecimiento de *Pseudomonas* sp., al cual denominaron “extracto de estiércol de vaca” obtenido del proceso de compostaje del estiércol de vaca, después lo diluyeron con agua destilada para obtener una solución al 20%. Con este “extracto de estiércol de vaca” observaron crecimiento de la bacteria en valores de 3.1x10¹⁰ UFC ml⁻¹ y al adicionar 1% de glicerol al medio, el crecimiento observado fue de 2.5x10¹¹ UFC ml⁻¹, valores superiores a los obtenidos con el medio King B (1.5x10¹¹ UFC ml⁻¹).

CONCLUSIONES

La co-digestión anaeróbica se ha convertido en una herramienta biotecnológica para el manejo de residuos orgánico-biológicos ya que trae consigo diversos beneficios: reduce la contaminación a suelo aire y agua, ocasionada por el almacenamiento de residuos a cielo abierto; es una fuente de energía alternativa y se genera un subproducto con propiedades fertilizantes.

Es interesante ver que se han usado diversos residuos, a la fecha desaprovechados, para obtener dos productos de interés, como son la producción de biogás combustible y el efluente, subproducto de la digestión anaeróbica, que se ha utilizado como sustituto de los fertilizantes químicos y como medio de cultivo para diversos microorganismos.

Se espera que el uso de este proceso microbiano sea usado más ampliamente por todas las ventajas que presente, tanto en la parte ambiental como en la parte económica y social.



Comercializadora e Importadora
de Equipo para Laboratorio

www.labequim.com.mx

Manejamos las más prestigias marcas de equipo y consumibles para laboratorio

- Microscopios
- Estereo microscopios
- Autoclaves
- Viscosímetros
- Balanzas
- Criostatos
- Hornos de secado
- Centrífugas
- Cámaras climáticas
- Campanas de flujo laminar
- Consumibles de Histología
- Microtómicos
- Centro de inclusión
- Reactivos
- Cámaras para microscopio
- Medidores de pH
- Termociclador de PCR tiempo real
- Micropipetas
- Kits para biología molecular
- Refrigeradores para laboratorio
- Procesador de Tejidos

LABEQUIM
10 Años



ventas@labequim.com.mx

Tel. 01(222) 219 88 18 / 274 50 72 / 73 Fax. 01(222) 274 50 72



Lab-Tech A la vanguardia de la investigación

CON MAS DE 35 AÑOS DE EXPERIENCIA EN LA DISTRIBUCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE EQUIPO, MATERIAL Y MOBILIARIO PARA LABORATORIO



Protecting your laboratory environment

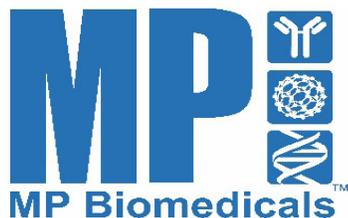
LABCONCO



Thermo
SCIENTIFIC



MOBILIARIO



 www.labtech.com.mx

BIBLIOGRAFIA

Albuquerque, J., De la fuente, C., Ferrer-Costa, A., Carrasco, L., Cegarra, L., Abad, M., and Bernal, M. 2012. Assessment of the fertiliser potential of digestates from farm and agroindustrial residues. *Biomass Bioenergy*. 40: 181-189.

Arguello, J.D.M. 2008. Comparación de la Acción de Diferentes Dosis de Biofertilizantes Líquidos (biol) sobre el Crecimiento de Mangle en Condiciones de Vivero". Tesis de Licenciatura. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador. 101 p.

Astals, S., Nolla-Ardevol, V., and Mata-Álvarez, J. 2012. Anaerobic co-digestion of pig manure and glycerol at mesophilic conditions: Biogas and digestate. *Bioresour Technol.* 110: 63-70.

Barrios, F. and Siura, S. 2001. Efectos de diferentes concentraciones de biol aplicados foliarmente y al suelo en el cultivo de vainita (*Phaseolus vulgaris* L.). Memorias del V Congreso Nacional Red de Acción en Alternativas al uso de Agroquímicos (RAAA). Lima, Perú.

Bejarano, C. and Méndez, H. 2004. Fertilización Orgánica Comparada con la Fertilización Química en el Cultivo de Frijol (*Phaseolus vulgaris*), Para minimizar el Efecto de Degradación del Suelo. Tesis de Licenciatura, Escuela de Ingeniería en Recursos Naturales Renovables, Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Universidad Técnica del Norte, Ibarra, Ecuador.

Bouallagui, H., Touhami, Y., Ben-Cheikh, R. and Hamdi, M. 2005. Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. *Process Biochem.* 40(3-4): 989-995.

Callaghan, F.J., Wase D.A., Thayanithy K., and Forster C.F. 2002. Continuous codigestion of cattle slurry with fruit and vegetable wastes and chicken manure. *Biomass Bioenergy*. 27: 71-77.

Campero, O. R. 2012. Sistema integral tratamiento de residuos de granja lechera mediante la biodigestión anaerobia en el Peru. *Desarrollo Local Sostenible*. 5(14): 1-9.

Carrillo L., 2003. Microbiología Agrícola. Available from: <http://www.unsa.edu.ar/matbib/micragri/micagricontenido.pdf>. pp. 10-15.

Cuetos, M.J., Fernández, C., Gómez, X. and Morán, A. 2011. Anaerobic co-digestion of swine manure with energy crop residues. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 16: 1044

Deressa, L., Libsu, S., Chavan, R. B., Manaye, D. and Dabassa, A. Production of Biogas from Fruit and Vegetable Wastes Mixed with Different Wastes. 2015. *Environ Ecology Research* 3(3): 65-71

Escobar, M.J.J. and Ronquillo, O.E. 2012. Respuesta a la fertilización orgánica con el uso de Biol y potásica inorgánica en King grass (*Pennisetum purpureum*) para estimación energética de potencial productivo de biogás. Tesis de Licenciatura, Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.

García-Peña, E.I., Parameswaranb, P., Kangb, D.W., Canul-Chana, M. and Krajalnik-Brownb, R. 2011. Anaerobic digestion and co-digestion processes of vegetable and fruit residues: Process and microbial ecology. *Bioresour Technol* 102(20): 9447-9455.

Gomero, O.L. 2005. Los biodigestores campesinos, una innovación para el aprovechamiento de los recursos orgánicos. *LEISA Agroecología*. 21(1): 25-27.

Guangqing, L., Ruihong, Z. Hamed, M. and Renjie, D. 2009. Effect of feed to inoculum ratios on biogas yields of food and green waste". *Bioresour Technol.* 100: 5103-5108.

Guanoapatín, C.M.R. 2012. Aplicación de biol en el cultivo establecido de alfalfa (*Medicago sativa*). Available from <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/969>.

Haraldsen, T. K., Andersen, U., Krogstad T. and Sørheim, R. 2011. Liquid digestate from anaerobic treatment of source-separated household waste as fertilizer to barley. *Waste Manage Res.* 29(12): 1271-1276.

Jiménez, C.E.V. 2011. Aplicación de Biol y Fertilización Química en la Rehabilitación de Praderas, Aloag-Pichincha". Tesis de Licenciatura. Carrera de Ciencias Agropecuarias, I.A.S.A. Escuela Politécnica del Ejército, Sangolqui, Ecuador.

Krakat, N., Schmidt, S., and Scherer, P. 2010. Mesophilic Fermentation of Renewable Biomass: Does Hydraulic Retention Time Regulate Methanogen Diversity. *Appl Environ Microbiol.* 76(18): 6322-6326.

Krause, L., Díaz, N., Edwards, R., Gatermann, K-H., Krömeke, H., Neuweiger, H., Pühler, A., Runte, K., Schüter, A., Stoye, J., Szczepanowski, R., Tauch, A. and Goesmann, A. 2008. Taxonomic composition and gene content of a methane-producing microbial community isolated from a biogas reactor", *J Biotechnol.* 136: 91-101.

Lehtomäki, A., Huttunen, S. and Rintala, J.A. 2007. Laboratory investigations on co-digestion of energy crops and crop residues with cow manure for methane production: Effect of crop to manure ratio. *Resources, Conservation and Recycling.* 51(3): 591-609.

Llaneza, H., Blanco, J. M. and López, M.R. 2009. Biogas generation apple pulp. *Bioresour Technol.* 100(17): 3843-3847.

Monosalvas, A.R.X. 2012. Determinación de la efectividad de biol Biogest Potencializado, como fuente nutricional complementaria en el cultivo de brócoli (*Brassica oleracea*) en la Provincia de Cotopaxi. Available from <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/4599>.

Passanha, P., Esteves, S., Kedia, G., Dinsdale, R. and Guwy, A. 2013. Increasing polyhydroxyalkanoate (PHA) yields from *Cupriavidus necator* by using filtered digestate liquors. *Bioresour Technol.* 147: 345-352.

Potschka, J. 2012. Biodigestores plásticos: producción de biogás con una inversión inicial de 1.010 y una vida útil de 10 años. *Producir XXI.* 20 (243): 20-24

Rasi, S., Veijanen, A., and Rintala, J. 2007. Trace compounds of biogas from different biogas production plants. *Energy.* 32: 1375-1380.

Srivastava, R., Arango, M. and Sharma, A.K. 2010. Cow dung extract: a medium for the growth of pseudomonads enhancing their efficiency as biofertilizer and biocontrol agent in rice. *Indian J Microbiol.* 50: 349-354.

Tambone, F., Scaglia, B., D'Imporzano, G., Schievano, A., Orzi, V., Salati, S., and Adani, F. 2010. Assessing amendmet and fertilizing properties of digestates from anaerobic digestion through a comparative study with digested sludge and compost. *Chemosphere.* 81: 577-583.

Torres, U.A.M. 2008. Efecto de la fertilización con bioles durante la fase de vivero de *Svietennia macropylla* (Caoba). Facultad de Ingeniería en Mecánica y ciencias de la producción, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador.

Trujillo, D., Pérez, J.F. and Cebreros, F.J. 1993. Energy recovery from wastes anaerobic digestion of tomato plant mixed with rabbit wastes. *Bioresour Technol.* 45: 81-83.

Velmurugan, B. and Ramanujam, R.A. 2011. Anaerobic Digestion of Vegetable Wastes for Biogas Production in a Fed-Batch Reactor. *Int. J. Emerg. Sci.* 1(3): 478-486.

Wang, L., Li, Y., Chen, P., Min, M., Chen, Y., Zhu, J. and Ruan, R. 2010. Anaerobic digested dairy manure as a nutrient supplement for cultivation of oil-rich green microalgae *Chlorella* sp. *Bioresour Technol.* 101: 2623-2628.

Wang, L., Fei, S., Hairong, Y., Dexun, Z., Yanping, L., Baoning, Z. and Xiujin L. 2014. Anaerobic co-digestion of kitchen waste and fruit/vegetable waste: Lab-scale and pilot-scale studies. *Waste Manage.* 34(12): 2627-2633

Wu, X., Yao, W., Zhu, J. and Miller, C. 2010. Biogas and CH4 productivity by co-digesting swine manure with three crop residues as an external carbon source. *Bioresour Technol.* 101: 4042-4047.

Zhong, W., Zhang, Z., Luo, Y., Qiao, W., Xiao, M. and Zhang, M. 2012. Biogas productivity by co-digesting Taihu blue algae with corn straw as an external carbon source. *Bioresour Technol.* 114: 281-286.



APLICACIÓN DE LA TURBIDIMETRÍA PARA LA MEJORA DE LA PRUEBA DE ALCOHOL CONVENCIONAL EN LECHE BOVINA

¹Amador-Espejo, G.G., ²Cedillo-Velázquez, K.y ²Ruiz-Espinosa, H.

1.CONACYT- Instituto Politécnico Nacional. Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. 2. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Facultad de Ingeniería Química. Colegio de Ingeniería en Alimentos.

Resumen

Con la intención de incrementar sensibilidad de la prueba rutinaria de alcohol en leche bovina, se empleó un análisis óptico de mayor eficacia, como es la turbidimetría, evaluando un par de leches descremadas tratadas térmicamente (72°C, por 15 s y 2 min). Los resultados turbidimétricos muestran una adecuada sensibilidad a la prueba de alcohol, al observarse un cambio importante en la turbidez de las muestras durante la medición. Asimismo, el cambio en la pendiente de turbidez en las muestras tratadas, muestra similitud con el tiempo de la prueba de alcohol tradicional. A pesar de necesitarse más réplicas e intervalos de temperatura, los primeros resultados muestran que es posible la mejora de la prueba convencional utilizando métodos ópticos.

Palabras clave. Leche, prueba de alcohol, Turbidimetría

Abstract

With the intention to increase the sensibility of routine alcohol test in bovine milk, turbidity optical analysis was employed, evaluating a couple of skim milk heat-treated samples (72°C

for 15 s and 2 min). The results of the turbidimetric test showed good sensitivity to alcohol test by observing a significant change in the turbidity during the measurement. Furthermore, the change in slope of turbidity in the treated samples shows similarity to the testing time in traditional alcohol test. Despite the needed for More replicates and temperature ranges, the first results show that it is possible to improve conventional optical test methods which which tend to be more accurate.

Key words, Milk, alcohol test, turbidimetry.

Introducción

La prueba de alcohol es una de las pruebas tradicionales de leche fluida; aunque no se aplica con regularidad en la mayor parte de países desarrollados, continúa siendo de uso común en diversos países de Latinoamérica y en Oriente Medio como un método rápido para definir la aceptabilidad de la leche a su llegada a planta, particularmente para evaluar su termoestabilidad (Guo et al., 1998).

Esta prueba consiste en detectar la formación de un precipitado en leche cuando se agrega un volumen igual de solución de etanol absoluto, por lo general aproximadamente 70% v/v; si la prueba es positiva (lo cual puede ocurrir por lactofermentación, por desequilibrio mineral, daño proteico, etc.), el lote de leche es rechazado pues se considera inadecuado para su procesamiento posterior. Esto se debe a que la leche para ser considerada apta para industrializarse debe exhibir una buena estabilidad al calor, ya que por lo regular se expone a altas temperaturas durante una o más etapas de proceso. La prueba de alcohol reviste una gran importancia debido a que la termorresistencia de la leche es necesaria para asegurar la eficacia del proceso térmico de conservación a la que se somete. En caso contrario, puede sufrir modificaciones indeseables durante el almacenamiento, incluyendo coagulación, enranciamiento, generación de sabores amargos y problemas de gelificación, entre otros.

De acuerdo a lo reportado en la bibliografía, no existe un procedimiento único para realizar la prueba del alcohol. Algunos de los factores que pueden variar son la concentración de la solución alcohólica y la razón de etanol:leche empleada. En la actualidad, estos factores son establecidos por cada industria láctea dependiendo de sus necesidades, sin embargo, la concentración de etanol se ha ido incrementando a fin de asegurarse de recibir leches más estables frente a los tratamientos térmicos (Molina et al., 2001). A pesar de que la prueba de alcohol tiene ventajas, tales como su facilidad y bajo costo de aplicación, presenta limitaciones importantes derivadas de su naturaleza subjetiva y cualitativa. Es por ello que existe la necesidad de plantear una metodología analítica rápida que permita obtener resultados cuantitativos de esta prueba haciéndola más precisa, abriendo una ventana para la aplicación de métodos ópticos.

Los métodos analíticos ópticos (incluyendo espectroscopía ultravioleta, infrarroja, turbidimetría, análisis de imagen y colorimetría) presentan ventajas importantes sobre los métodos químicos, por lo que en tiempos recientes se han empezado a utilizar con mayor frecuencia, por su rapidez y facilidad. Por esta razón, el objetivo de este estudio fue el uso de una técnica óptica para evaluar de forma más objetiva la prueba de alcohol en leche bovina.

Materiales y Métodos

Para este estudio, se obtuvo leche entera de un proveedor ubicado en la ciudad de Puebla. Esta

leche se descremó completamente empleando una descremadora eléctrica LKL (LKL, Bulgaria) a 10,500 rpm. La composición (2.65 ± 0.13 proteína, 7.11 ± 0.36 sólidos no grasos) fue evaluada mediante una prueba rápida con un analizador ultrasónico (Lactoscan LA, Milkotronic Ltd, Bulgaria).

Posteriormente, cada lote de leche fue dividido en dos secciones y fueron sometidos a un tratamiento térmico diferente, empleando un baño maría en un baño serológico, colocando en el gabinete los recipientes con la leche hasta que alcanzó la temperatura deseada: 72°C por 15 segundos (pasteurización HTST) y 72°C por 2 minutos (leche sometida a abuso térmico), respectivamente. Tras el tratamiento térmico correspondiente, la leche se enfrió inmediatamente y se mantuvo a temperatura de refrigeración 4-6°C por 30 minutos hasta su uso.

Prueba de Alcohol

Las soluciones de etanol (Sigma Aldrich, 100% de pureza) se realizaron a dos diferentes concentraciones (68 y 78% v/v). Se seleccionó un diseño aleatorizado con una variable independiente: la concentración de las soluciones de etanol con dos niveles (68 y 78%). Lo anterior se determinó basado en lo reportado por Molina et al. (2001). Estos autores establecen que la concentración usual de etanol para la prueba de alcohol en leche es de 68% (v/v), aunque algunas industrias lácteas han aumentado la concentración a 78% para asegurarse de recibir leches más estables frente a tratamientos térmicos.

Evaluación de la evolución de la prueba de alcohol mediante turbidimetría

La turbidez de las muestras de leche se midió usando un turbidímetro (HACH 2100N, Loveland, CO., EEUU) con luz transmitida a 860 nm de acuerdo al método propuesto por Martin et al. (2007). Las unidades de medición empleadas fueron nefelométricas de turbidez (NTU). Posteriormente, se realizó el calibrado del instrumento utilizando los estándares secundarios de Gelex en el intervalo de <0.1 a 4000 NTU; la calibración se llevó a cabo empezando con el estándar de valor NTU más bajo continuando en orden ascendente. Para la medición de la muestra, se colocan dentro de la cubeta de vidrio perfectamente limpia 10 mL de leche y 20 mL de solución de etanol con el uso de pipetas de 10 mL, llenando hasta la línea marcada en la cubeta. La mezcla se agitó durante 5 s y se procedió a realizar la medición inmediatamente.

Análisis estadístico

Los resultados analizados por ANOVA y posteriormente por una prueba de Tukey para evaluar diferencias entre las muestras, a una $P < 0.05$. El análisis se llevó a cabo utilizando el software Minitab 16 (Minitab Inc., EE.UU.). Las pruebas fueron llevadas a cabo por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Prueba de alcohol en leche fluida cruda y tratada térmicamente

Se realizó la prueba de alcohol convencional empleando leche cruda descremada, los resultados se muestran en la Tabla 1. Asimismo, los resultados de la Tabla 1 son comunes para una prueba de alcohol en leche tratada térmicamente, mostrando diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los tratamientos aplicados. En este sentido, Amador-Espejo et al. (2013) presentan un comportamiento similar, obteniendo una menor estabilidad a la prueba de alcohol (vista como un menor tiempo de precipitación) al aplicarse tratamientos térmicos más severos.

Tabla 1. Prueba de alcohol convencional en leche fluida cruda y tratada térmicamente.

Leche fluida tratada térmicamente	Solución de etanol	Tiempo en que se forma el precipitado ¹
HTST ²	68%	>1 h (sin presencia) ^a
Abuso térmico		>1 h (sin presencia) ^a
HTST	78%	82.33 s \pm 4.04 ^b
Abuso térmico		57 s \pm 3 ^c

1. Diferentes subíndices indican diferencia significativa. n = 3 réplicas.
2. HTST = 72°C 15 s

Turbidez

Debido a que las pruebas convencionales de alcohol con porcentajes bajos llevaron un tiempo muy prolongado sin exhibir cambio, se optó por trabajar sólo con la solución de 78% (v/v). En la Figura 1 podemos observar que en ambos tratamientos térmicos la tendencia general de los datos de las unidades nefelométricas NTU fue de disminuir con el tiempo, llegando a mostrar una estabilización de la lectura después de los 150 s aproximadamente. A pesar de que el punto de inicio de cada tratamiento es diferente, la tendencia es similar, presentándose un descenso de 4066 a 3820 en la muestra tratada a 72°C por 15 s (T1), mientras que en la muestra tratada a 72°C por 2 minutos (T2), se observa un punto de caída a los pocos segundos

de evaluación con una pendiente muy inclinada hasta llegar a un comportamiento lineal aproximadamente a los 3500 NTU.

Asimismo, en el T1 en el intervalo de 20-60 s hay un pequeño cambio en la refracción de la luz, que puede

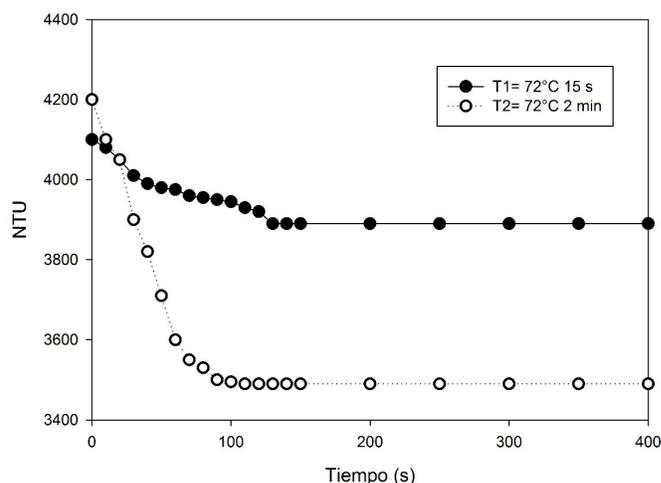


Figura 1. Seguimiento de la prueba de alcohol por turbidez en leche cruda descremada tratada térmicamente; razón 1:2 (leche: solución de etanol al 78% v/v). NTU (Unidades nefelométricas de turbidez), a 72 °C por 15 s. y 72°C por 2 min.

observarse como un cambio en la pendiente observada. Por su parte, en el T2 se observa este cambio en la pendiente aproximadamente a los 100 s. Al comparar los resultados obtenidos en la prueba convencional de alcohol a las mismas condiciones (Tabla 1), el tiempo en que se observa la formación del precipitado tiene cierta similitud con el tiempo de cambio en la pendiente observada en las determinaciones por turbidimetría. Según Simmons et al. (2007) al inicio del proceso de desnaturalización proteica se producen partículas muy pequeñas con un tamaño de entre 5 y 10 μm , las cuales con el transcurso del tiempo se agregan formando partículas más grandes y eventualmente incluso pueden precipitar. De acuerdo a esto, se puede deducir que el tiempo en que el turbidímetro detecta un cambio en la refracción de la luz es el momento en que inicia el proceso de desnaturalización, ya que el turbidímetro detecta proteínas con un rango aproximado de 1-100 μm (Mahler et al., 2009). Por otra parte, en la prueba de alcohol convencional, el tiempo reportado es el momento en que se observa la formación del precipitado por agregación de proteínas ya que el ojo humano tiene la capacidad de detectar objetos ligeramente más pequeños de 80 μm a una distancia de 25 cm (Mahler et al., 2009).

Conclusiones

Los resultados derivados del seguimiento de la prueba de alcohol por turbidez nos indican que el método puede detectar un cambio en la leche en presencia de etanol, al mostrar una disminución de la turbidez, debido a un cambio en la estructura de la micela. A pesar de que hace falta evaluar una mayor cantidad de réplicas y de tratamientos térmicos, estos resultados muestran que es posible la correlación de la medición turbidimétrica como el tiempo de precipitado de la proteína en la prueba convencional de alcohol, haciendo posible la mejora de la técnica convencional.

Referencias

Amador-Espejo, G.G. Suárez-Berencia, A., Juan, B., Bárcenas, M.E. and Trujillo, A.J. 2013. Effect of moderate inlet temperatures in ultra-high-pressure homogenization treatments on physicochemical and sensory characteristics of milk. *J. Dairy Sci.* 97: 659-71.

Guo, M.Z; Wang, Z. Li, J. Qu, L. Jin, P. and Kindstedt. 1998. Ethanol stability of goat's milk. *Int Dairy J* 8: 57-6.

Horne, S.D and Muir, D.D. 1990. Alcohol and Heat Stability of Milk Protein. *J Dairy Sci.* 73: 3613-3626.

Mahler, C-H; Friess, W; Grauschopf, U; Kiese, S. 2009. Protein Aggregation: Pathways, Induction Factors and Analysis. *J. of Pharmaceutical Sci.* 98: 2909-2934.

Molina, L, H; González, R; Brito, C; Carrillo, B and Pinto, M. 2001. Correlación entre la termoestabilidad y prueba de alcohol de la leche a nivel de un centro de acopio lechero. *Archivos de Medicina Veterinaria.* 33 (2).

Simmons, H.J.M; Jayaraman, P. and Fryer, J.P. 2007. The effect of temperature and shear rate upon the aggregation of whey protein and its implications for milk fouling. *J Food Engineering.* 79: 517-528.



Científica Senna S.A. de C.V. ofrece soluciones para la investigación científica, nuestra compañía ofrece productos de marcas con renombre internacional, como son:



Anticuerpos, Lisados, Peptidos, RNAi, marcadores, Proteínas y Kits



Líneas celulares, bacterias, cepas de Referencia, sueros y medios de cultivo



Microarreglos de Anticuerpos y Proteínas Peptidos, EIA y Kits de Elisa



Anticuerpos para detectar actina y proteínas, proteínas motoras



Material de Plástico, cajas de cultivo celular, multiplacas y cristalería Pyrex



Medios de Cultivo, suplementos, buffers, antibióticos, Suero fetal



Reactivos, antibióticos, enzimas, factores de crecimiento, cromatografía



Extracción de ácidos nucleicos, medios de cultivo, enzimas, reactivos



Reactivos para biología molecular, electroforesis, medios de cultivo

Para mayor información de productos o marcas que ofrecemos favor de comunicarse a: Tel: (55) 5740-2603
info@cientificasenna.com www.cientificasenna.com



GE Healthcare



LOTTO BIONANOLAB



INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE TLAXCO



REACTIVOS Y EQUIPO, S.A. DE C.V.



CIBA - IPN

INVESTIGACIÓN +

POSGRADOS

- Maestría en Biotecnología Aplicada
- Maestría en Biotecnología Productiva
- Doctorado en Biotecnología Aplicada
- Doctorado en Biotecnología Productiva



Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada
Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal
Tecuexcomac - Tepetitla Km. 1.5, Tlaxcala, C.P. 90700, México